

TIEREXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN
ZUR WIRKUNGSDAUER DES NIEDERMOLEKULAREN
HEPARIN CY 216 AM THROMBOSEMODELL NACH
HARBAUER BEI DER RATTE

ARMIN RIEDL

Disbui. München

1989

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Experimentelle Chirurgie der
Technischen Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. G. Blümel

Arbeit angefertigt unter Leitung
von

Frau Prof. Dr. med. S. Haas

Vorgelegt über

Prof. Dr. med. vet. U. Lösch
Institut für Physiologie, Physiologische Chemie
und Ernährungsphysiologie
der

Tierärztlichen Fakultät
der

Ludwig-Maximilians-Universität München

**Tierexperimentelle
Untersuchungen zur Wirkungsdauer
des niedermolekularen Heparin
CY 216 am Thrombosemodell nach
Harbauer bei der Ratte**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der

Tierärztlichen Fakultät
der

Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Armin Riedl
aus
Hechingen

München 1989

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. M. Rüsse
Referent: Univ.-Prof. Dr. U. Lösch
Korreferent: Univ.-Prof. Dr. W. Hermanns

Tag der Promotion: 24. Februar 1989

Herstellung: Hieronymus Buchreproduktions GmbH, München

INHALTSVERZEICHNIS

I	Einleitung.....	1
II	Beschreibung des soziokulturellen Hintergrunds und ethnohistorischen Hintergrunds.....	2
II.1	Lebenslagen (1970).....	2
II.1.1	Charakteristika.....	2
II.1.2	Einflussfaktoren.....	2
II.1.3	Einfluss des VHS auf die Lebenslagen.....	2
II.2	Einfluss des VHS auf die Lebenslagen.....	2
II.2.1	Einflussfaktoren auf die Lebenslagen.....	2
II.2.2	Einflussfaktoren auf die Lebenslagen.....	2

Meinen Eltern

III.1	Einleitung.....	3
III.1.1	Einleitung.....	3
III.1.2	Einleitung.....	3
III.1.3	Einleitung.....	3
III.1.4	Einleitung.....	3
III.1.5	Einleitung.....	3
III.1.6	Einleitung.....	3
III.1.7	Einleitung.....	3
III.1.8	Einleitung.....	3
III.1.9	Einleitung.....	3
III.1.10	Einleitung.....	3
III.1.11	Einleitung.....	3
III.1.12	Einleitung.....	3
III.1.13	Einleitung.....	3
III.1.14	Einleitung.....	3
III.1.15	Einleitung.....	3
III.1.16	Einleitung.....	3
III.1.17	Einleitung.....	3
III.1.18	Einleitung.....	3
III.1.19	Einleitung.....	3
III.1.20	Einleitung.....	3
III.1.21	Einleitung.....	3
III.1.22	Einleitung.....	3
III.1.23	Einleitung.....	3
III.1.24	Einleitung.....	3
III.1.25	Einleitung.....	3
III.1.26	Einleitung.....	3
III.1.27	Einleitung.....	3
III.1.28	Einleitung.....	3
III.1.29	Einleitung.....	3
III.1.30	Einleitung.....	3
III.1.31	Einleitung.....	3
III.1.32	Einleitung.....	3
III.1.33	Einleitung.....	3
III.1.34	Einleitung.....	3
III.1.35	Einleitung.....	3
III.1.36	Einleitung.....	3
III.1.37	Einleitung.....	3
III.1.38	Einleitung.....	3
III.1.39	Einleitung.....	3
III.1.40	Einleitung.....	3
III.1.41	Einleitung.....	3
III.1.42	Einleitung.....	3
III.1.43	Einleitung.....	3
III.1.44	Einleitung.....	3
III.1.45	Einleitung.....	3
III.1.46	Einleitung.....	3
III.1.47	Einleitung.....	3
III.1.48	Einleitung.....	3
III.1.49	Einleitung.....	3
III.1.50	Einleitung.....	3
III.1.51	Einleitung.....	3
III.1.52	Einleitung.....	3
III.1.53	Einleitung.....	3
III.1.54	Einleitung.....	3
III.1.55	Einleitung.....	3
III.1.56	Einleitung.....	3
III.1.57	Einleitung.....	3
III.1.58	Einleitung.....	3
III.1.59	Einleitung.....	3
III.1.60	Einleitung.....	3
III.1.61	Einleitung.....	3
III.1.62	Einleitung.....	3
III.1.63	Einleitung.....	3
III.1.64	Einleitung.....	3
III.1.65	Einleitung.....	3
III.1.66	Einleitung.....	3
III.1.67	Einleitung.....	3
III.1.68	Einleitung.....	3
III.1.69	Einleitung.....	3
III.1.70	Einleitung.....	3
III.1.71	Einleitung.....	3
III.1.72	Einleitung.....	3
III.1.73	Einleitung.....	3
III.1.74	Einleitung.....	3
III.1.75	Einleitung.....	3
III.1.76	Einleitung.....	3
III.1.77	Einleitung.....	3
III.1.78	Einleitung.....	3
III.1.79	Einleitung.....	3
III.1.80	Einleitung.....	3
III.1.81	Einleitung.....	3
III.1.82	Einleitung.....	3
III.1.83	Einleitung.....	3
III.1.84	Einleitung.....	3
III.1.85	Einleitung.....	3
III.1.86	Einleitung.....	3
III.1.87	Einleitung.....	3
III.1.88	Einleitung.....	3
III.1.89	Einleitung.....	3
III.1.90	Einleitung.....	3
III.1.91	Einleitung.....	3
III.1.92	Einleitung.....	3
III.1.93	Einleitung.....	3
III.1.94	Einleitung.....	3
III.1.95	Einleitung.....	3
III.1.96	Einleitung.....	3
III.1.97	Einleitung.....	3
III.1.98	Einleitung.....	3
III.1.99	Einleitung.....	3
III.1.100	Einleitung.....	3

INHALTSVERZEICHNIS

I.	Einleitung.....	1
II.	Beschreibung von unfractioniertem Heparin und niedermolekularem Heparin.....	3
II.1.	Unfractioniertes Heparin (UFH).....	3
II.1.1.	Chemischer Aufbau.....	3
II.1.2.	Wirkungsmechanismus.....	6
II.1.3.	Nachteile des UFH aus klinischer Sicht.....	8
II.2.	Niedermolekulares Heparin (NMH).....	11
II.2.1.	Begriffserklärung und Herstellung.....	11
II.2.2.	Molekulargewichtsabhängige Hemmung der aktivierten Gerinnungsfaktoren.....	11
II.2.3.	Wirkung von NMH auf die Fibrinolyse und Thrombozyten.....	15
II.2.4.	Antithrombotische und blutungsfördernde Wirkung von NMH im Tierexperiment.....	17
II.2.5.	Pharmakokinetische Eigenschaften.....	19
II.2.6.	Antagonisierung von NMH durch Protamin.....	21
II.2.7.	Toxikologie.....	22
II.2.8.	Klinische Erfahrungen mit NMH.....	22
II.2.8.1.	Anwendung von NMH zur Thromboembolieprophylaxe.....	22
II.2.8.1.1.	Thromboembolieprophylaxe in der Allgemeinchirurgie.....	23
II.2.8.1.2.	Thromboembolieprophylaxe in der Knochenchirurgie.....	24
II.2.8.1.3.	Thromboembolieprophylaxe in der Inneren Medizin.....	25
II.2.8.2.	Behandlung manifester Thrombosen mit NMH.....	26
II.2.8.3.	Klinische Erfahrungen mit NMH in der Dialyse.....	27

III.	Zielsetzung.....	2 9
IV.	Material und Methode.....	3 1
IV.1.	Wahl des Thrombosemodells.....	3 1
IV.2.	Entwicklung der Methode.....	3 2
IV.3.	Versuchstiere.....	3 3
IV.5	Präparation.....	3 4
IV.6.	Messung der Blutflußgeschwindigkeit.....	3 4
IV.7.	Thromboseinduktion.....	3 4
IV.8.	Interpretation der thrombosebedingten Änderungen des Flußgeschwindigkeitssignals.....	3 7
IV.9.	Zuteilung und Dosierung der Substanzen.....	3 9
IV.10.	Versuchsablauf.....	3 9
IV.11.	Beurteilungskriterien	4 0
IV.12.	Statistische Auswertung.....	4 1
V.	Ergebnisse.....	4 2
VI.	Diskussion.....	5 0
VI.1.	Diskussion der Methode.....	5 0
VI.2.	Diskussion der Ergebnisse.....	5 1
VII.	Zusammenfassung.....	6 0
VIII.	Summary.....	6 2
IX.	Literaturverzeichnis.....	6 4
X.	Verzeichnis der Abkürzungen und Symbole..	9 0
XI.	Danksagung.....	9 1
XII.	Lebenslauf.....	9 2

I. Einleitung

Venöse thromboembolische Erkrankungen stellen ein großes Problem in der Humanmedizin, insbesondere in den chirurgischen Fachbereichen dar. Die Zahl der hierdurch verursachten Todesfälle wird für die Bundesrepublik Deutschland auf 25.000 pro Jahr geschätzt (105). In den USA ist die Lungenembolie die dritthäufigste Todesursache mit ca. 200.000 Todesfällen im Jahr (136). Häufiger noch als die letalen Folgen sind hohe Morbiditätsraten durch pulmonale Hypertonie nach rezidivierenden klinischen Lungenembolien und die Entwicklung einer chronischen venösen Insuffizienz, des sog. postthrombotischen Syndroms (105).

Daß die Zahl thromboembolischer Komplikationen in den vergangenen Jahrzehnten kontinuierlich angestiegen ist, liegt vor allem an der Zunahme immer größerer chirurgischer Eingriffe an immer älteren multimorbiden Patienten. Da die Häufigkeit tödlicher postoperativer Lungenembolien eindeutig mit dem Alter zunimmt, kommt heutzutage der Thromboembolieprophylaxe eine große Bedeutung zu (69).

In der Veterinärmedizin hingegen spielen venöse Thromboembolien nur eine untergeordnete Rolle. Beim Tier treten venöse Thrombosen in der Hauptsache nach Traumen, nach Übergreifen von Entzündungen aus der Nachbarschaft oder infolge parasitärer Einflüsse auf. Die beim Menschen vorherrschenden dyskrasischen und hämodynamischen Thrombosen sind bei den Haustieren weitgehend unbekannt (39, 157).

Die Reduktion postoperativer Thrombosen, deren Ursprung bei der Mehrzahl der Patienten (etwa 90%) in den tiefen Beinvenen liegt, ist auf zwei Wegen zu erreichen, durch Verringerung der Stase (physikalische Maßnahmen) und durch Verminderung der Hyperkoagulabilität (93, 136).

Heparin, das erstmals 1916 von McLean aus Hundeleber isoliert worden ist, wird eingesetzt, um der Hyperkoagulabilität entgegenzuwirken. Es ist das am längsten in klinischem Gebrauch befindliche Antikoagulans mit einem großen Anwendungsbereich, der nicht nur die Thromboembolieprophylaxe, sondern auch die Behandlung manifester Thrombosen und

die Gerinnungshemmung bei der extrakorporalen Zirkulation (Herz-Lungen-Maschine, Hämodialyse) umfaßt.

Auf dem Gebiet der peri- und postoperativen sowie intensiv-medizinischen Thromboembolieprophylaxe hat sich die von Kakkar et al. vorgeschlagene niedrig dosierte, subkutan applizierte Gabe von Heparin, die sog. "Low-dose-Heparinprophylaxe" recht gut bewährt und mittlerweile in der Bundesrepublik Deutschland weitgehend durchgesetzt (94).

Ihr Nutzen ist jedoch nicht ganz unumstritten. So bestehen einerseits Zweifel über eine ausreichende Wirksamkeit der "Low-dose-Heparinprophylaxe" bei Operationen mit besonders hoher Thromboemboliegefahr, wie etwa bei hüftgelenksnahen Eingriffen, da hier trotz signifikanter Senkung der Thromboseinzidenz das Restrisiko noch relativ hoch ist (151).

Andererseits führen Berichte über intra- und postoperative Nachblutungen immer wieder dazu, das Verfahren in Frage zu stellen (3, 63, 98, 99). Bei der Bewertung des Blutungsrisikos ist nämlich zu berücksichtigen, daß zum Schutze einer begrenzten, aber nicht vorhersehbaren Zahl von thrombosegefährdeten Patienten ein sehr großes Patientengut einer medikamentösen Thromboembolieprophylaxe unterzogen wird, da es bisher noch nicht gelungen ist, geeignete Laborparameter zur Risikoabschätzung zu finden. Eine Thromboembolieprophylaxe unter derartigen Bedingungen setzt allerdings voraus, daß die Nebenwirkungen möglichst gering sind. Man ist deshalb bemüht, antithrombotische Substanzen bzw. modifizierte Heparine zu entwickeln, die bei gleicher oder höherer antithrombotischer Wirksamkeit als das derzeit verwendete Heparin eine größere Sicherheit vor hämorrhagischen Komplikationen garantieren.

Antikoagulatorischer und antithrombotischer Effekt des Heparins sind nicht gleichzusetzen. Während heparinbedingte Blutungen auf die Fähigkeit des Heparins, das Blut ungerinnbar zu machen, zurückgeführt werden, scheint der antithrombotische Effekt komplexerer Natur zu sein. In der Heparinforschung liegt folglich der Wunsch nahe, die antikoagulatorischen und antithrombotischen Eigenschaften des Heparins voneinander zu trennen.

In vitro Untersuchungen sowie tierexperimentelle und erste klinische Erfahrungen haben gezeigt, daß niedermolekulare Heparine bei erhaltener antithrombotischer Potenz eine geringere Gerinnungshemmung aufweisen als herkömmliches Heparin. Angesichts einer verlängerten biologischen Halbwertszeit gegenüber unfraktioniertem Heparin wird ferner die Möglichkeit eröffnet, die Anzahl der notwendigen Heparinjektionen von bisher 2-3 Injektionen auf eine pro Tag zu reduzieren. Dadurch wird eine praktikablere Durchführung der Thromboembolieprophylaxe in Aussicht gestellt.

Es ist gegenwärtig das Ziel zahlreicher tierexperimenteller und klinischer Studien zu prüfen, ob die von verschiedenen Herstellern angebotenen niedermolekularen Heparinpräparate die in sie gesetzten Erwartungen erfüllen und als Alternative zum herkömmlichen Heparin oder zu oralen Antikoagulantien in Betracht kommen.

II. Beschreibung von unfraktioniertem Heparin und niedermolekularem Heparin

II.1. Unfraktioniertes Heparin

II.1.1. Chemischer Aufbau

Heparin ist eine körpereigene Substanz, die in den Mastzellen synthetisiert und in deren Granula gespeichert wird. Besonders reichlich kommt es in der Lunge, Leber und Darmmukosa vor, wohingegen sich im Blut unter physiologischen Bedingungen nur geringe Heparinkonzentrationen (Mensch: unter 0.00015 mg/ml Plasma) finden (26, 88).

Käufliches Heparin wird bevorzugt aus Darmmukosa vom Schwein, bisweilen auch aus Rinderlungen durch Extraktion und anschließende Reinigung gewonnen. Es ist keine einheitliche Substanz, sondern ein Gemisch aus bis zu 120 linearen Verbindungen mit unterschiedlicher Kettenlänge und unterschiedlichem Molekulargewicht, welche eine ähnliche Saccharid-Grundstruktur aufweisen (87).

Biochemisch ist Heparin ein polysulfatiertes Glykosaminoglykan, das infolge eines hohen Gehalts an sauren Gruppen (Schwefelsäureester-, Sulfamino- und Carboxylgruppen) vielfach negativ geladen ist. Das

mittlere Molekulargewicht einer solchen Heparinpräparation beträgt 12.000 - 15.000 Dalton, das Molekulargewicht der einzelnen Polysaccharidketten reicht von 5.000 - 30.000 Dalton (80). Die Molekulargewichtsverteilung unterliegt dabei je nach Herkunft und Extraktionsverfahren erheblichen Schwankungen (35).

2 Disaccharide, nämlich β -D-Glucuronsäure - D-Glucosamin-2,6-disulfat und α -L-Iduronsäure-2-sulfat - D-Glucosamin-2,6-disulfat, die durch eine 1,4-glykosidische Bindung miteinander verknüpft sind, bilden das Grundgerüst des Heparinmoleküls. Der Polymerisationsgrad und das quantitative Verhältnis der beiden Disaccharidkomponenten variieren ebenso wie Anzahl und Stellung der funktionell wichtigen schwefelhaltigen Substituenten. Deshalb bestehen zwischen den einzelnen Heparinketten beträchtliche Unterschiede in der Fähigkeit, mit bestimmten Basen und Proteinen Komplexe zu bilden, als auch in der biologischen Aktivität.

Abb.1 gibt das Konstruktionsprinzip eines Heparinmoleküls wieder.

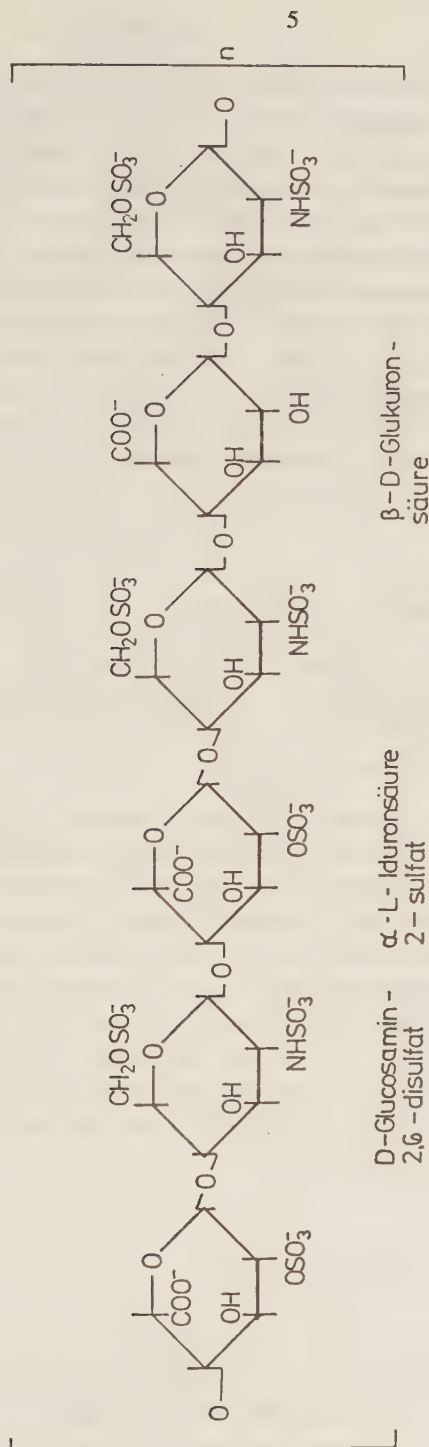


Abb. 1 : Ausschnitt aus einem Heparin - Molekül. Bei einem mittleren Molekulargewicht von 15000 Dalton wiederholt sich der abgebildete Hexasaccharid - Abschnitt ungefähr 8 mal pro Molekül.

Nähere Strukturanalysen ergaben, daß in den Heparinketten auch Bereiche vorkommen, die von dem Grundbauprinzip abweichen (35). Besonders hervorzuheben ist in diesem Zusammenhang eine spezifische Pentasaccharidsequenz, die man bei etwa einem Drittel aller Polysaccharidketten einer Heparinpräparation findet. Es konnte nachgewiesen werden, daß dieses Pentasaccharid für die Bindung des Heparins an das Antithrombin III (AT III) essentiell und für die antikoagulatorische Wirkung unentbehrlich ist (36, 37, 84, 114). Man nennt diese Heparinanteile wegen ihrer hohen Affinität zu AT III auch "High affinity-Heparin". In einer Heparinpräparation wirkt demnach nur ein variabler Anteil von etwa 30% gerinnungshemmend, während der Rest, das sog. "Low affinity-Heparin", für andere, unspezifische Reaktionen verantwortlich ist (5).

II.1.2. Wirkungsmechanismus

Als Polyanion verfügt Heparin über zahlreiche biologische Aktivitäten (89). Von klinischer Bedeutung aber ist zur Zeit nur seine antithrombotische Eigenschaft, welche durch eine Hemmung der plasmatischen Gerinnung bedingt sein soll.

Heparin ist selbst kaum gerinnungshemmend wirksam. Zur Entfaltung seiner antikoagulatorischen Wirkung ist es auf die Anwesenheit eines im Plasma zirkulierenden Glykoproteins, des AT III, angewiesen. Das AT III, auch unter der Bezeichnung "Heparin-Cofaktor" bekannt, wird als der wichtigste physiologische Inhibitor der Blutgerinnung angesehen (1). Es besitzt ein breites Wirkungsspektrum, indem es gegen alle wichtigen Serinproteasen des Gerinnungs- und Fibrinolysesystems gerichtet ist. So hemmt es neben Thrombin (F.IIa) auch den aktivierten Faktor X und mit geringerer Aktivität die übrigen Serinproteasen, zu denen F.XIIa, F.XIa, F.IXa und das für die Initiierung der Gerinnungskaskade bedeutsame Plasmakallikrein gehören (Abb.2) (40, 58).

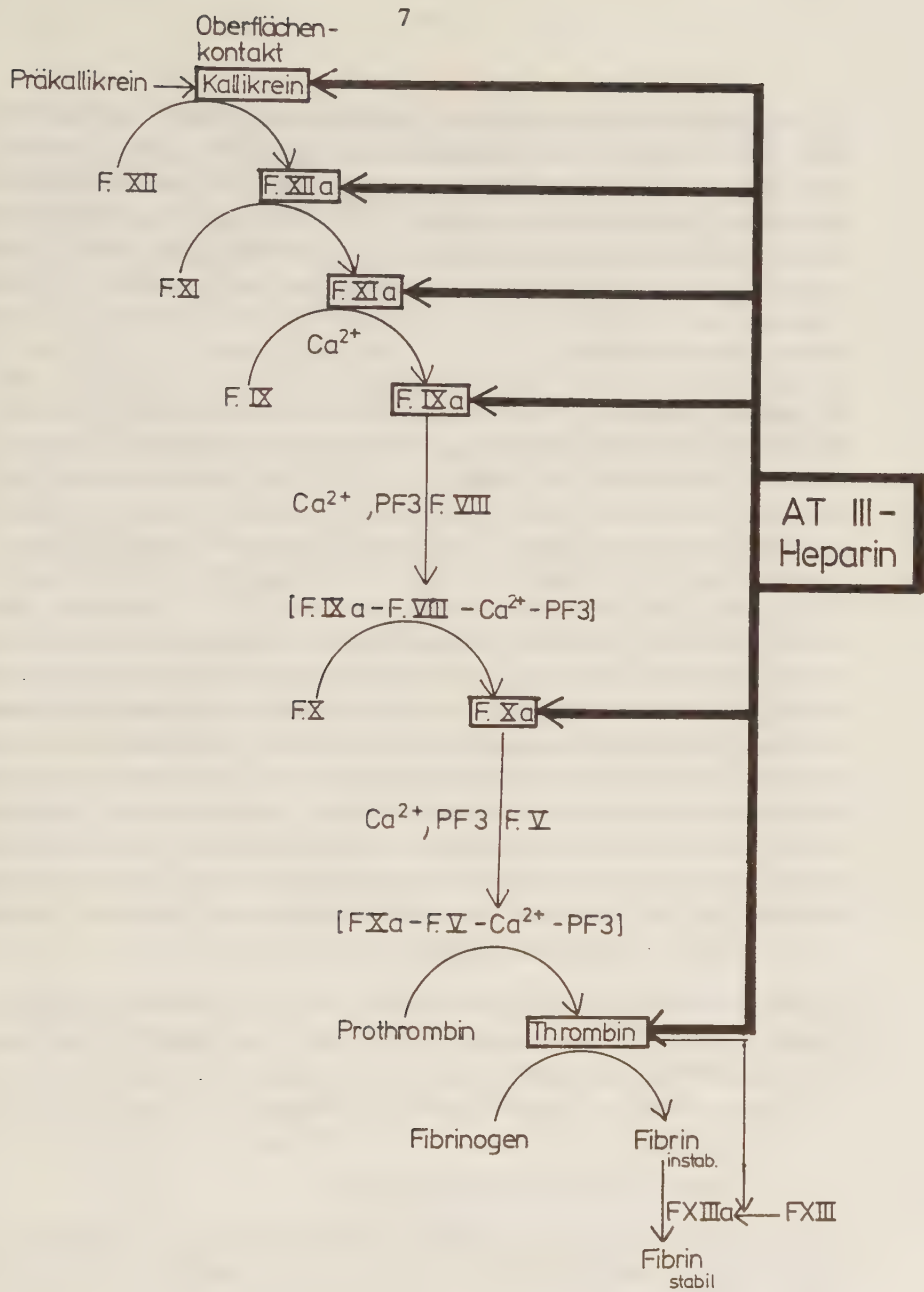


Abb.2 : Schematische Darstellung der Hemmwirkungen des AT III - Heparin -Komplexes im endogenen Gerinnungssystem.

Die Neutralisierung aktivierter Gerinnungsenzyme durch AT III erfolgt durch die Bildung eines Enzym-Inhibitor-Komplexes. Dieser Komplex wird über eine kovalente Bindung zwischen der OH-Gruppe des aktiven Serins des Gerinnungsenzyms und der COOH-Gruppe eines Argininrestes im AT III-Molekül zusammengehalten. Ohne Heparin läuft dieser Prozeß langsam ab. In Gegenwart des Mucopolysaccharids indes wird die Reaktion des AT III mit den erwähnten Gerinnungsenzymen um ein Vielfaches beschleunigt.

Es werden mehrere chemische Mechanismen beschrieben, die der Heparinwirkung zugrundeliegen. Als allgemein anerkannte Hypothese gilt die Interaktion von Heparin, AT III und Serinproteasen nach Rosenberg (122) und Damus et al. (40). Sie nehmen an, daß es zunächst zu einer Reaktion des negativ geladenen Heparins mit positiv geladenen Epsilon-amino-lysin-Gruppen auf dem AT III-Molekül kommt. Die hieraus resultierende Konformationsänderung des AT III-Moleküls führt dazu, daß das aktive Arginin des Inhibitors besser exponiert und für das aktive Serin des Thrombins und der anderen Serinproteasen leichter erreichbar wird. Auf diese Weise gewinnt das AT III eine höhere Affinität zu den Gerinnungsproteasen, welche für die gesteigerte Komplexbildungsrate verantwortlich ist. Sobald der Serinprotease-ATIII-Heparin-Komplex gebildet ist, dissoziiert das Heparinmolekül und steht wieder zur Aktivierung eines freien AT III-Moleküls zur Verfügung. Heparin übt somit die Funktion eines Katalysators aus, der im Zusammenspiel mit AT III sowohl die Früh- als auch die Spätphase des Gerinnungssystems rasch und wirksam hemmt.

Heparin besitzt ferner die Fähigkeit, die Antithrombinwirkung des Heparin-Cofaktor II zu verstärken. Da aber die Affinität zu diesem Thrombininhibitor geringer ist als zu AT III, kommt dieser Effekt erst bei höheren Heparinkonzentrationen zum Tragen (49, 140).

II.1.3. Nachteile des UFH aus klinischer Sicht

Konventionelles Heparin hat einige Nachteile bezüglich Wirksamkeit, Verträglichkeit und Praktikabilität, die bei der klinischen Anwendung stören.

Obwohl der Wirkungsnachweis der Low-dose-Heparinprophylaxe durch eine Vielzahl von klinischen Studien erbracht worden ist (92, 124), gibt es dennoch Patientengruppen, sog. Hochrisiko-Patienten, bei denen die Senkung der Thrombose- und Embolierate mit niedrig dosiertem Heparin unbefriedigend ist. Hierunter fallen z.B. Patienten der Traumatologie und orthopädischen Chirurgie (148).

Ausgedehnte chirurgische Eingriffe, wie Hüftgelenkoperationen, gehen mit umfangreichen Gewebstraumatisierungen einher und führen zu einer übermäßigen Aktivierung des Gerinnungssystems durch massive Freisetzung thromboplastischer Substanzen. Niedrige Heparinkonzentrationen reichen nicht mehr aus, die vermehrt gebildeten Gerinnungsfaktoren zu neutralisieren. Dies erklärt die gegenüber anderen Eingriffen wesentlich höhere Thrombose- und Embolierate nach hüftchirurgischen Eingriffen bei niedrig dosiertem Heparin.

Wegen des relativ engen therapeutischen Bereiches sind Blutungskomplikationen die Hauptnebenwirkung, die nicht selten den Einsatz von konventionellem Heparin beeinträchtigen. Die Zahl schwerer oder tödlicher Blutungen im Rahmen der postoperativen Thromboembolieprophylaxe konnte durch die Einführung der Gabe von niedrig dosiertem Heparin stark verringert werden. Jedoch werden unter Heparin gehäuft Wundhämatome beobachtet, die vor allem bei Eingriffen am Auge oder Zentralnervensystem schwerwiegende Folgen haben können. Eine sorgfältige Abwägung von Nutzen und Risiko der generellen Thromboseprophylaxe ist deshalb bei derartigen Eingriffen angebracht (91).

Ebenfalls problematisch ist die Anwendung von Heparin bei thrombosegefährdeten Patienten, bei denen wegen versteckter Blutungsquellen (z.B. Magen-Darm-Ulcera) oder wegen anderer Krankheiten UFH kontraindiziert ist. In gleicher Weise gilt dies für Patienten mit dialysepflichtiger Niereninsuffizienz, die zusätzlich ein erhöhtes Blutungsrisiko haben.

Immer häufiger wird auf Thrombozytopenien hingewiesen, die im Verlauf einer Therapie mit Heparin, manchmal auch nach subkutaner Applikation niedriger Heparindosen auftreten (32, 61, 96). In der Literatur werden Häufigkeiten zwischen 1% und 30% angegeben, wobei

allerdings in den meisten Studien die Thrombozytopenierate 6% nicht überschreitet. Klinisch unterscheidet man eine milde Form mit geringem Plättchenabfall kurz nach der Heparininjektion und eine schwere, wahrscheinlich immunvermittelte Form, die erst nach mehrtägiger Latenzzeit auftritt. Die Mehrzahl der Patienten mit einer schweren Thrombozytopenie entwickelt zusätzlich noch venöse und arterielle Thrombosen, die mit einem erheblichen Mortalitätsrisiko behaftet sind.

Weitere unerwünschte Nebenwirkungen sind Störungen des Knochenstoffwechsels im Sinne einer Osteoporose bei Langzeitbehandlung mit Heparin, Alopezie, Transaminasenanstieg und in seltenen Fällen Allergien (143).

Ein Nachteil ergibt sich aus der kurzen Wirkungsdauer von konventionellem Heparin. Sie macht entweder die Verabreichung einer Dauerinfusion oder häufige intravenöse oder subkutane Injektionen erforderlich, was eine Belastung für Patienten und Pflegepersonal darstellt.

II.2. Niedermolekulares Heparin

II.2.1. Begriffserklärung und Herstellung

Mit neueren Trennverfahren ist es gelungen, das komplexe Heparin nach verschiedenen Eigenschaften zu fraktionieren (58). Die Beobachtung der Arbeitsgruppen um Andersson (5) und Johnson (90) im Jahre 1976, daß die gerinnungshemmende Eigenschaft des Heparins wesentlich von seiner Molekulargewichtsverteilung abhängt, hat das Interesse in der Heparinforschung in der Folgezeit besonders auf die Heparinpräparate mit niedrigem durchschnittlichen Molekulargewicht gelenkt. Als eine Art Arbeitsdefinition werden diese als niedermolekulare Heparine bezeichnet.

Zu ihrer Herstellung aus herkömmlichem Heparin stehen zahlreiche Verfahren zur Verfügung. Präparativer Methoden, wie z.B. Gelfiltration, Ethanolpräzipitation oder Ultrafiltration, bedient man sich, um aus dem breiten Spektrum von Polysacchariden einzelne Fraktionen unterschiedlichen Molekulargewichts zu isolieren. Eine höhere Ausbeute an NMH wird durch kontrollierte, partielle Depolymerisierung der Zuckerketten erzielt. Diese Spalt- oder Cracking-Verfahren liefern Heparinbruchstücke, sog. Heparinfragmente mit einem deutlich niedrigeren Molekulargewicht als das Ausgangsmaterial. Die Spaltung kann dabei chemisch (z.B. durch salpetrige Säure) oder enzymatisch (bakterielle Heparinase) erfolgen. Durch Modifikation oder Kombination der diversen Fraktionierungsmethoden entstehen niedermolekulare Heparine unterschiedlicher Zusammensetzung. Das mittlere Molekulargewicht einer solchen Präparation ist mit 4.000 - 6.000 Dalton bei einer Molekulargewichtsverteilung von 600 - 12.000 Dalton knapp halb so hoch wie das der Ausgangssubstanz (74).

II.2.2. Molekulargewichtsabhängige Hemmung der aktivierten Gerinnungsfaktoren

Die antithrombotische Wirksamkeit niedriger Heparindosen wird im wesentlichen auf eine spezifische Hemmung des F.Xa zurückgeführt (153). Die Bedeutung der F.Xa-Hemmung für die Thromboemboliepro-

phylaxe wird verständlicher, wenn man sich das Verstärkerprinzip der Gerinnungskaskade ansieht. 1 µg AT III ist in der Lage, 32-E F.Xa und dadurch indirekt 1600-E F.IIa zu inhibieren. Die direkte Hemmung von 1600-E F.IIa erfordert die 1000fache Menge an AT III (65, 158). Durch eine Blockierung des Gerinnungsablaufs auf der Ebene des F.Xa kann somit körpereigenes AT III und auch Heparin gespart werden.

Außer einer erhöhten Anti-Xa-Aktivität ist in der Thromboembolieprophylaxe eine schwächere Antithrombinwirkung erwünscht, da ein Zusammenhang zwischen verstärkter Thrombinhemmung und Hämostasestörungen mit vermehrter Blutungsneigung vermutet wird (152).

Heparinfraktionen unterschiedlichen Molekulargewichts wurden in den letzten Jahren von zahlreichen Arbeitsgruppen bezüglich ihrer anti-koagulatorischen Wirkung sowohl in vitro als auch ex vivo untersucht (2, 4, 5, 7, 8, 13, 22, 54, 55, 90, 101, 102, 145). Es stellte sich heraus, daß diese Fraktionen mit abnehmendem Molekulargewicht die Fähigkeit, Thrombin zu inaktivieren, verlieren, während gleichzeitig die Hemmwirkung auf den F.Xa zunimmt. Konventionelles Heparin dagegen inhibiert F.Xa und Thrombin in gleichem Maße.

Die Inhibierung von F.Xa ist ex vivo nicht wie bei den in vitro-Daten vierfach, sondern sechs- bis achtfach stärker als durch konventionelles Heparin. Entsprechend der geringen Antithrombinwirkung beobachtet man bei NMH eine Verminderung der globalen Gerinnungsaktivität, bestimmt anhand der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (APTT).

Zur Charakterisierung niedermolekularer Heparine wurde das Verhältnis Anti-Xa-Aktivität/APTT-Verlängerung eingeführt. Eine Verlängerung der APTT gilt dabei als Zeichen eines erhöhten Blutungsrisikos. Während dieser Quotient für UFH 1 beträgt, nimmt er mit abfallendem Molekulargewicht zu und liegt für die meisten niedermolekularen Heparinpräparationen in vitro bei 4.

Der Grund für die geringe thrombinhemmende Wirkung niedermolekularer Heparine wird darin gesehen, daß Thrombin sich nicht nur an AT III, sondern gleichzeitig auch an Heparin binden muß, um inaktiviert zu werden. Voraussetzung dafür ist, daß Heparin eine bestimmte Mindestkettenlänge aufweist. Holmer et al. konnten zeigen, daß eine

Sequenz von wenigstens 18 Zuckereinheiten, was einem Molekulargewicht von etwa 5.000 Dalton entspricht, für die Hemmung des Thrombins sowie der Faktoren XIa und IXa benötigt wird. Für die AT III-vermittelte Neutralisierung von F.Xa, F.XIIa und Plasmakallikrein indes reichten Heparinketten mit 8-16 Monosacchariden aus. Holmer und Mitarbeiter folgerten daraus, daß es zur wirksamen Hemmung dieser Serinproteasen keiner zweiten Bindungsstelle auf dem Heparinmolekül bedarf (Abb.3) (80, 82).

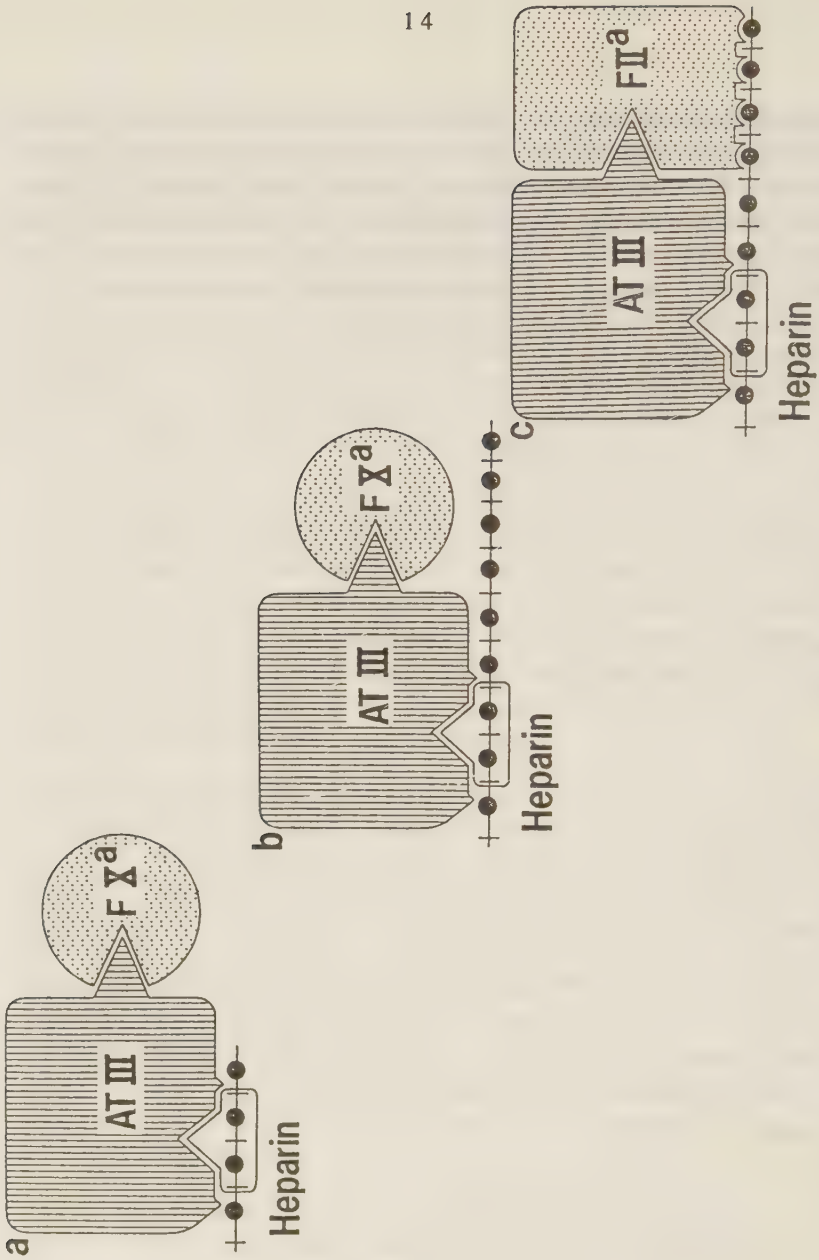


Abb 3: Modellvorstellung des möglichen Mechanismus der Inhibierung des FIIa und Thrombins(FIIa) durch AT III in Anwesenheit von Heparin nach Holmer et al. (aus Holmer E., Söderberg K., Bergqvist D., Lindahl U. : 84)

Eine alternative Erklärung besagt, daß Heparin verschiedene Bindungsstellen, sog. Domänen besitzt, die mit entsprechenden Rezeptoren auf dem AT III reagieren. Die Aktivierung des AT III zur Bindung an F.Xa erfolgt demnach durch eine Domäne, während zur Aktivierung der Reaktionsstellen auf dem AT III für die F.IIa, IXa und XIa noch eine zusätzliche Domäne benötigt wird. Heparinketten mit weniger als 16-18 Monosacchariden sollen diese zweite Bindungsstelle für das AT III nicht enthalten. Möglicherweise besitzen lange Polysaccharidketten noch eine dritte Domäne, die mit spezifischen Bindungsstellen auf den F.IIa, IXa und XIa reagieren. Sie soll zu einer weiteren Beschleunigung der Inaktivierung dieser Serinproteasen durch AT III beitragen (121).

II.2.3. Wirkung von NMH auf die Fibrinolyse und Thrombozyten

Widersprüchlich sind die Ergebnisse bezüglich der Wirkung niedermolekularer Heparine auf die Fibrinolyse.

Fareed et al. konnten im Tierexperiment und bei gesunden Probanden demonstrieren, daß niedermolekulare Heparine ebenso wie UFH in die Fibrinolyse eingreifen (56). Sie beobachteten nach Gabe von konventionellem Heparin aus Schweinedarmmukosa, von CY 222, einem "ultra-NMH" mit einem mittleren Molekulargewicht von 2.500 Dalton, und von PK 10169, einem weiteren Vertreter der Substanzklasse der niedermolekularen Heparine, eine Erhöhung der Konzentration des gewebeständigen Plasminogenaktivators (t-PA), der wahrscheinlich aus dem Gefäßendothel freigesetzt wird, ferner eine Verkürzung der Euglobulin-Lysis-Zeit (ELT) und eine Zunahme der Peptide B beta 15-42, welche aus dem Fibrinabbau durch Plasmin hervorgehen.

Nach subkutaner Applikation der niedermolekularen Heparinfraktion Fragmin^R wurden von Eriksson et al. erhöhte t-PA-Konzentrationen im Plasma und eine verkürzte ELT gemessen (51).

Rutllant et al. hingegen konnten bei Patienten mit tiefer Beinvenenthrombose weder für Fragmin^R noch für CY 222 eine fibrinolytische Aktivität nachweisen (123). Keiner der untersuchten Fibrinolyseparameter war signifikant verändert.

In die gleiche Richtung weist das Ergebnis der Untersuchung von Schrader et al., die Hämodialyse-Patienten mit Fragmin^R behandelten (134). Auch hier war der fibrinolytische Effekt der Heparinfraktion nur schwach ausgeprägt.

CY 216 beeinflusste in vitro die ELT ebensowenig wie das nicht fraktionierte Präparat. Jedoch bewirkte subkutane Verabreichung beider Heparine eine deutliche Verkürzung der ELT (141).

Auch die von Vinazzer et al. untersuchte niedermolekulare Heparinfraktion (3.300 Dalton) verfügte in vitro über keine nennenswerte fibrinolytische Aktivität, wogegen UFH (11.000 Dalton) und ein hochmolekulares Heparin (18.300 Dalton) die ELT dosisabhängig verkürzten. Der fibrinolytische Effekt könnte dabei durch den F.XII und Kallikrein vermittelt werden, denn gleichzeitig mit der Verkürzung der ELT fanden Vinazzer et al. nach Zugabe des UFH und der hochmolekularen Fraktion in vitro erhöhte F.XII- und Kallikrein-Spiegel. Die Stärke der Aktivierung der Fibrinolyse hängt somit vom Molekulargewicht, aber auch vom Sulfatierungsgrad der Substanz ab (144).

Es besteht weitgehende Übereinstimmung, daß NMH nicht oder nur in geringem Umfang mit Thrombozyten interagiert (18, 52, 83, 106, 129, 145, 155).

Salzman et al. stellten fest, daß hochmolekulare Heparinfraktionen unabhängig von ihrer Affinität zu AT III die Plättchenaggregation fördern (125). HA-NMH beeinflusste im Unterschied zu LA-NMH die Plättchenfunktion nicht. Sie führen dies darauf zurück, daß Heparinmoleküle mit niedrigem Molekulargewicht und hoher Affinität zu AT III kaum Bindungsstellen für Thrombozyten enthalten und deshalb überwiegend an AT III binden, während LA-NMH zahlreiche derartige Rezeptoren aufweisen soll. Hochmolekulare Fraktionen sind groß genug, um AT III und Plättchen zu binden.

Brace et al. untersuchten ein anderes NMH und dessen Subfraktionen in vitro und fanden, daß der plättchenaggregierende Effekt mit abnehmender Molekülgröße, aber unabhängig von der AT III-Affinität schwächer wird (19).

Erwähnenswert ist, daß die Bindung von Fibrinogen an mit ADP behandelten Thrombozyten durch NMH wesentlich weniger verstärkt wird als durch UFH (50).

Aufgrund der geringeren Beeinflussung der Thrombozytenfunktion sollten niedermolekulare Heparine seltener zu iatrogenen Thrombozytopenien führen als konventionelles Heparin. Es sind bereits in der Literatur zahlreiche Fälle beschrieben, wo NMH-Präparate erfolgreich bei Patienten mit heparininduzierter Thrombozytopenie eingesetzt wurden (62, 120, 146). Nach den bisherigen Erfahrungen kann aber die durch heparinspezifische Antikörper induzierte schwere Thrombozytopenie auch nach Umstellung auf NMH fortbestehen (62, 85).

II.2.4. Antithrombotische und blutungsfördernde Wirkung von NMH im Tierexperiment

Mit Hilfe verschiedener experimenteller Thrombosemodelle konnte gezeigt werden, daß eine Reihe von NMH zumindest die gleiche antithrombotische Wirkung haben wie UFH, obwohl ihre gerinnungshemmende Wirkung, gemessen an der APTT, deutlich geringer ist (14, 28, 34, 149, 150). Anti-Xa-Heparinspiegel ex vivo und antithrombotische Wirkung korrelierten in den meisten Fällen nur bis zu einem bestimmten unteren Grenzbereich des mittleren Molekulargewichts der Heparinfraktionen.

Ockelford et al. konnten eine Beziehung zwischen Anti-Xa-Plasmaspiegel und antithrombotischer Aktivität für UFH (16.000 Dalton), die mittel- (7.600 Dalton) und die niedermolekulare Fraktion (4.600 Dalton), nicht jedoch für das extrem kurzkettige Heparinfragment mit einem durchschnittlichen Molekulargewicht von 3.000 Dalton aufzeigen (111). Dieses "ultra-NMH" bewirkte zwar die höchsten Anti-Xa-Spiegel im Blut, war aber nicht in der Lage, die Tiere vor einem experimentell induzierten Venenthrombus nennenswert zu schützen.

Diese Ergebnisse decken sich mit jenen von Holmer et al. (81), Buchanan et al. (27) und Thomas et al. (137). Die Arbeitsgruppe um Thomas verglich in einem Kaninchenmodell zwei verschiedene HA-Oligosaccharide und UFH hinsichtlich ihrer antithrombotischen Eigenschaften.

Trotz hoher Anti-Xa-Aktivität war das HA-Decasaccharid nicht antithrombotisch wirksam, während UFH bei annähernd gleicher Dosierung die Thrombusentstehung fast vollständig verhinderte. Mit einem Heparinfragment, bestehend aus 16-18 Monosacchariden, das über eine starke Hemmwirkung auf F.Xa und über eine schwache Antithrombinwirkung verfügte, konnte ein im Vergleich zu UFH geringer antithrombotischer Effekt erzielt werden. Diese Ergebnisse führten zu der Annahme, daß zur Entfaltung der vollen antithrombotischen Wirkung eine minimale Anti-IIa-Aktivität vorhanden sein müsse (137).

Dem widersprechen neuere tierexperimentelle Ergebnisse von Walenga et al (149, 150). Sie berichten, daß ein hochaffines Pentasaccharid mit ausschließlicher Anti-Xa-Aktivität in einem modifizierten Thrombosemodell nach Wessler in gleicher Weise wie UFH thrombosehemmend wirkte.

Aus diesen tierexperimentellen Ergebnissen läßt sich somit keine eindeutige Beziehung zwischen Anti-Xa-Aktivität und antithrombotischer Wirkung ableiten. Die Beobachtung von Merton et al., daß LA-Heparin, das selbst inaktiv ist, die antithrombotische Potenz hochaffiner Heparinfraktionen verstärkt, ist so zu interpretieren, daß die antithrombotische Wirkung des Heparins nicht allein von seiner AT III-Affinität, sondern darüber hinaus von weiteren Faktoren abhängt (110).

Die Bestimmung der Blutungszeit und die Messung des Blutverlustes nach Ohrinzision oder Transsektion der Rattenschwanzspitze anhand von radioaktiv markierten Erythrozyten sind gebräuchliche Methoden zur Untersuchung der hämorrhagischen Eigenschaften von Heparin und dessen Fraktionen.

In einem Primatenmodell (Macaca Mulatta) beeinflusste das NMH PK 10169 in einer Dosierung bis zu 1000 Anti-Xa-E/kg die Blutungszeit nicht, während unter UFH eine dosisabhängige Verlängerung der Blutungszeit beobachtet wurde (53).

Nach Injektion von 500 USP-E pro Kaninchen wurde von Carter et al. unter UFH ein wesentlich höherer Blutverlust gemessen als unter dem NMH (33).

Auch das NMH CY 222 erwies sich in einem Stasemodell als effizientes Antithrombotikum und wirkte dabei nicht blutungsfördernd, wie der im Vergleich zu UFH signifikant geringere Blutverlust nach Ohrinzision bewies. Eine Beziehung zwischen Blutverlust und einzelnen Blutgerinnungsparametern konnte nicht aufgezeigt werden (28).

Die Ergebnisse von Ockelford et al. sprechen ebenfalls für einen blutungsauslösenden Mechanismus, der von den antikoagulatorischen Eigenschaften des Heparins unabhängig ist (113). Sie konnten nämlich demonstrieren, daß LA-Heparin, das weder gerinnungshemmende noch antithrombotische Aktivitäten besitzt, signifikant zu Blutungen beiträgt.

Hirsh postulierte, daß der hämorrhagische Effekt im wesentlichen auf der Beeinträchtigung der Thrombozytenfunktion beruhe und deshalb die therapeutische Breite niedermolekularer Heparine größer sei (79).

II.2.5. Pharmakokinetische Eigenschaften

Es hat sich bei tierexperimentellen (31, 53, 156) und humanpharmakologischen Untersuchungen (13, 23, 42, 78, 104, 145) zeigen lassen, daß niedermolekulare Heparine nicht nur höhere, sondern auch länger anhaltende Anti-Xa-Plasmaspiegel in vivo induzieren als UFH.

Beim Menschen beträgt die Halbwertszeit des Abfalls der F.Xa-Inhibierung für NMH nach intravenöser Injektion 2-3 Stunden und ist damit zweifach länger als für UFH. Wird NMH subkutan verabreicht, verlängert sich die Halbwertszeit auf 4-5 Stunden im Vergleich zu 2 Stunden für UFH. Die Bioverfügbarkeit der niedermolekularen Heparine für F.Xa ist nach subkutaner Applikation mit über 90% sehr viel höher als die herkömmlichen Heparins mit nur 15-20%. Man versteht hierunter den Quotienten aus den gemessenen Anti-Xa-Aktivitäten nach subkutaner und intravenöser Injektion. Offensichtlich werden die kleineren Heparinmoleküle besser aus dem subkutanen Gewebe resorbiert als die größeren (43). Was im Unterhautgewebe mit den verschiedenen Polysaccharidketten im einzelnen passiert, ist jedoch nicht bekannt.

Das Molekulargewicht spielt bei der Neutralisierung von Heparin durch den Plättchenfaktor 4 (PF 4) eine Rolle.

PF 4 ist ein kationisches Protein, das in den α -Granula der Blutplättchen vorkommt und im Verlauf der Plättchenaggregation neben anderen Substanzen freigesetzt wird. Nach Heparin-gabe steigt die PF 4-Konzentration im Plasma erheblich an. Das Fehlen eines parallelen Anstiegs des β -Thromboglobulins, das ebenfalls in den α -Granula enthalten ist, läßt darauf schließen, daß der freigesetzte PF 4 nicht unmittelbar aus den Thrombozyten stammt. Vielmehr wird das Gefäßendothel als Ursprungsort des heparin-induzierten PF 4 angesehen, wo er der Neutralisierung endothelgebundener Glykosaminoglykane dienen soll (44). Vermutlich bewirkt die höhere Affinität von PF 4 zu Heparin ein Ablösen des PF 4 von seinen perivaskulären Bindungsstellen und die Bildung von zirkulierenden Heparin-PF4-Komplexen.

Der Mechanismus der Komplexbildung ist noch nicht vollständig geklärt. Nach Verstraete kommt es zu einer Wechselwirkung zwischen den sauren Gruppen des Heparins und den entsprechenden basischen Gruppen an der Proteinoberfläche (143). Die Wechselwirkung ist abhängig von der Ladungsverteilung und dementsprechend von der Länge der Polysaccharidkette, jedoch nicht von einer bestimmten Kohlenhydratsequenz, da HA- und LA-Heparin gleichermaßen mit PF 4 eine Bindung eingehen können.

Denton et al. untersuchten Heparinfraktionen mit unterschiedlichen Molekulargewichten in Hinblick auf ihre Interaktion mit dem PF 4 und stellten fest, daß sich die Anti-Xa-Aktivität von hochaffinen Oligosacchariden mit 8-10 Zuckerkomponenten nur zur Hälfte durch den PF 4 aufheben läßt (45). Um eine rasche und vollständige Neutralisierung von HA-Heparinfragmenten mit mehr als 16 Monosacchariden zu erreichen, wurden im Vergleich zu UFH höhere Mengen an PF 4 benötigt. Chromatographische Untersuchungen dieser Arbeitsgruppe dokumentieren, daß HA-Octa- und Decasaccharide eine niedrigere Affinität zum PF 4 haben als UFH oder Heparinfragmente mit mehr als 16 Monosacchariden.

Die längere Halbwertszeit der niedermolekularen Heparine könnte somit auf ihre geringe Reaktionsfähigkeit mit PF 4 zurückzuführen sein.

Auch die Affinität zu histidinreichem Glykoprotein, einem weiteren Heparinantagonisten, ist im Vergleich zu UFH niedriger (143).

II.2.6. Antagonisierung von NMH durch Protamin

Blutungskomplikationen durch konventionelles Heparin können mit Protamin beherrscht werden. Dabei gehen die verlängerten Gerinnungszeiten auf ihre Normwerte zurück. Protamin wird deshalb zur Neutralisierung der Heparinwirkungen in der Klinik eingesetzt.

Um herauszufinden, inwieweit Protaminchlorid geeignet ist, die gerinnungshemmenden Effekte von NMH zu neutralisieren, verabreichten Harenberg et al. gesunden Probanden intravenös verschiedene niedermolekulare Heparine (Fragmin^R, CY 216, Hepar-Industries, NMH-Sandoz) zusammen mit dem Heparinantagonisten (72, 73, 75, 78). Es zeigte sich, daß der Anteil des NMH, der für die Wirkung auf das Thrombin und die APTT verantwortlich ist, mit Protaminchlorid antagonisiert werden kann.

Hinsichtlich der Neutralisierung der Hemmwirkung auf F.Xa unterschieden sich UFH und NMH. Während die inhibierende Wirkung von UFH auf den F.Xa nach intravenöser Verabreichung von Protaminchlorid sofort und nahezu vollständig verschwand, ließ sich der Anti-Xa-Effekt aller von Harenberg et al. getesteten niedermolekularen Heparine nur zu 40-50% durch Protaminchlorid neutralisieren. Dies stimmt auch mit in vitro-Daten überein (119), weshalb angenommen wird, daß die Heparinanteile, die nur noch F.Xa inhibierend wirken, nicht neutralisiert werden. Diese Anteile unterschreiten eine bestimmte Mindestgröße, die für eine Interaktion mit Protaminchlorid erforderlich ist.

Es ist aber auch möglich, daß niedermolekulare Heparine endogene Substanzen mit Anti-Xa-Aktivität freisetzen, die mit Protaminchlorid nicht antagonisiert werden können.

Da die von Protaminchlorid nicht beeinflussbare restliche Anti-Xa-Aktivität der niedermolekularen Heparine keine blutungsauslösende Wirkung mehr zu haben scheint, kann Protaminchlorid auch als Antidot für niedermolekulare Heparine herangezogen werden.

II.2.7. Toxikologie

Über die Toxikologie von NMH wird in der Literatur nur wenig berichtet (74). Nach subkutaner Injektion wird an Mäusen für das NMH-Sandoz eine LD_{50} von 125.000 Anti-Xa-E/kg ermittelt. Sie ist damit 10fach höher als die LD_{50} der unfraktionierten Präparation, die mit 13.000 Anti-Xa-E/kg angegeben wird. Bei einer Dosierung von 260.000 Anti-Xa-E/kg s.c. der Substanz CY 216 beträgt die Letalitätsrate 10%, während für das unfraktionierte Heparinpräparat eine LD_{50} von 130.000 Anti-Xa-E/kg s.c. gefunden wird. Als Todesursache werden lokale Blutungen genannt.

Bei subchronischen Toxikologieprüfungen werden für die Substanzen Fragmin^R, CY 216 und NMH-Sandoz in Dosierungen, die 15-50fach höher liegen als für normales Heparin, mit Ausnahme von lokalen Hämatomen keine toxischen Effekte auf andere Organe beobachtet.

II.2.8. Klinische Erfahrungen mit NMH

II.2.8.1. Anwendung von NMH zur Thromboembolieprophylaxe

In der operativen und konservativen Thromboembolieprophylaxe sind verschiedene niedermolekulare Heparine in großem Umfang mit dem Ziel eingesetzt worden, die antithrombotische Wirksamkeit und Verträglichkeit der neuen Substanzen unter Beweis zu stellen. Wegen der zweifach längeren Halbwertszeit der niedermolekularen Heparine interessierte ferner die Frage, ob mit einer einmaligen Gabe dieser Präparationen pro Tag ein ausreichender Thromboseschutz zu erreichen ist.

II.2.8.1.1. Thromboembolieprophylaxe in der Allgemeinchirurgie

In einer randomisierten und prospektiven, 468 Patienten umfassenden Doppelblindstudie konnten Bergqvist et al. den Nachweis erbringen, daß mit einmal täglich 5.000 Anti-Xa-E Fragmin^R die Thrombose rate bei abdominalchirurgischen Eingriffen ebenso wirkungsvoll gesenkt werden kann wie mit 2x5.000-IE UFH (11). Die Thrombosehäufigkeit, bestimmt mit dem Radiofibrinogentest, lag in der Fragmin^R-Gruppe bei 6.4%, in der UFH-Gruppe bei 4.3%. Bezüglich Komplikationen in Form von Mortalität, perioperativem Blutverlust und Transfusionsbedarf unterschieden sich die beiden Gruppen nicht. Allerdings war der Anteil der Patienten, die postoperative Transfusionen benötigten, unter Fragmin^R signifikant höher (34,9% vs. 25.4%). Die Autoren führen die postoperativen Blutungskomplikationen auf das kurze Intervall zwischen erster Injektion und Operationsbeginn (2 Stunden präoperativ) zurück.

In einer französischen Multicenter-Studie wurden 385 Patienten der Abdominalchirurgie einbezogen. 195 Patienten erhielten täglich 1x2.500 Anti-Xa-E Fragmin^R s.c., 190 Patienten wurden mit üblichem Low-dose-Heparin (2x5.000-IE) behandelt. 6 Patienten der Fragmin^R-Gruppe (3.1%) und 7 Patienten der Low-dose-Heparin-Gruppe (3.7%) waren im Radiofibrinogentest positiv. Die Verträglichkeit war in beiden Gruppen gleich gut (29).

Der klinische Nutzen der Einmal-täglich-Prophylaxe mit Fragmin^R zeigte sich ebenfalls in einer Studie von Ockelford et al (112). Sie verglichen unter Doppelblindbedingungen die einmal tägliche Gabe von 2.500 Anti-Xa-E Fragmin^R gegen Placebo bei 238 Patienten mit allgemein chirurgischen Eingriffen. Der Radiofibrinogentest ergab bei 16.9% der mit Placebo behandelten Kontroll-Patienten und bei 4.2% der mit Fragmin^R behandelten Patienten ein positives Ergebnis, welches bei 10% der Kontroll- und 2.2% der Fragmin^R-Patienten phlebographisch verifiziert werden konnte. Die Unterschiede waren in beiden Fällen signifikant. Die Gabe des NMH führte nicht zu einem erhöhten Blutungsrisiko und wurde im allgemeinen vom Patienten sehr gut vertragen.

Auch Kakkar et al. (95), Haas und Zielke (68) sowie Koller et al. (97) empfehlen für Patienten der Allgemeinchirurgie die tägliche Einmalgabe von 2.500 Anti-Xa-E Fragmin^R.

Eine von Koller et al. durchgeführte Studie (1x7.500 Anti-Xa-E Fragmin^R vs. 2x5.000-IE UFH) wurde wegen gehäufter Blutungskomplikationen unter Fragmin^R frühzeitig abgebrochen (97).

Klinische Prüfungen von Sasahara et al. (127) und Voigt et al. (147) zeigen, daß die Einmalgabe von 1.500 APTT-E NMH in fixer Kombination mit 0.5 mg Dihydroergotamin (Embolex NM^R) der zweimaligen Gabe von 5.000-IE Heparin-Dihydroergotamin (Heparin-DHE) bei der Verhinderung von thromboembolischen Komplikationen nach abdominalchirurgischen Eingriffen gleichwertig ist.

Für das NMH Enoxaparin wird die subkutane Applikation von 1x20 mg empfohlen. In einer von Samama et al. durchgeführten randomisierten und multizentrischen Studie war diese Enoxaparin-Dosis genauso wirksam wie 3x5.000-IE UFH (126).

II.2.8.1.2. Thromboembolieprophylaxe in der Knochenchirurgie

Niedermolekulare Heparine wurden auch an Patienten der orthopädischen Chirurgie, welche in bezug auf thromboembolische und hämorrhagische Komplikationen als Hochrisiko-Patienten gelten, erprobt.

Im Rahmen einer prospektiven, kontrollierten und randomisierten Studie, in die 110 Patienten mit elektivem Hüftgelenkersatz aufgenommen wurden, verglichen Haas et al. Heparin-DHE (2x5.000-IE) und Fragmin^R (1x5.000 Anti-Xa-E) (67). Am Operationstag wurde die Fragmin^R-Dosis auf 2x2.500 Anti-Xa-E aufgeteilt. Mittels des Radiofibrinogentests wurde für beide Behandlungsgruppen eine annähernd gleiche Thrombosefrequenz ermittelt (Fragmin^R-Gruppe: 12%; Heparin-DHE-Gruppe: 15%). Bezüglich des Auftretens von Wundhämatomen war kein Unterschied zwischen den beiden Testgruppen erkennbar. Der Bedarf an Transfusionen war unter Fragmin^R sowohl intra- als auch postoperativ höher.

Breyer et al. konnten mit 1x5.000 Anti-Xa-E Fragmin^R Patienten mit Traumata der unteren Extremität sogar noch wirksamer vor tiefen Beinvenenthrombosen schützen als mit einem Kombinationspräparat aus 5.000-IE UFH und 0.25 mg DHE, welches zweimal pro Tag subkutan appliziert wurde (25).

Auch die Kombination NMH/DHE hat sich in der orthopädischen Chirurgie bewährt, wie eine randomisierte Doppelblindprüfung von Haas et al., an der 160 Patienten mit elektivem Hüftgelenkersatz teilnahmen, zeigt (66). 80 Patienten bekamen zweimal am Tag 5.000-IE Heparin plus 0.5 mg DHE, die andere Hälfte einmal am Tag 1.500 APTT-E NMH plus 0.5 mg DHE (Embolex NM^R). In beiden Gruppen traten bei je 15 Patienten Thrombosen auf. Ein Patient, dem Heparin-DHE verabreicht wurde, erlitt eine Lungenembolie. Die Verteilung der Wundhämatome in beiden Kollektiven war mit je 21 gleich. 13 Patienten unter Heparin-DHE erhielten postoperativ Vollbluttransfusionen im Vergleich zu 26 aus der Embolex NM^R-Gruppe.

Barsotti et al. (9) und Planes et al. (116) schlagen aufgrund eigener Erfahrungen für das gleiche Patientengut eine Prophylaxe mit 1x40 mg Enoxaparin vor. Bemerkenswert ist, daß in beiden Studien die erste Injektion des NMH 12 Stunden vor Operationsbeginn erfolgte.

II.2.8.1.3. Thromboembolieprophylaxe in der Inneren Medizin

30 Patienten, die einer permanenten Antikoagulation bedurften und bei denen es unter konventionellen Antikoagulantien zum Teil zu schweren Blutungen gekommen war, wurden von Harenberg et al. über einen längeren Zeitraum mit Fragmin^R in Dosen, die von 1x2.500 bis 1x20.000 Anti-Xa-E s.c. reichten, behandelt (76). Die Thromboseinzidenz lag in dem gleichen Bereich wie für konventionelle Substanzen. Blutungszwischenfälle waren unter dem NMH seltener und weniger stark ausgeprägt.

Das gleiche NMH erwies sich auch bei Patienten mit prothetischem Herzklappenersatz in einer Dosierung von 1x7.000 bis 1x10.000 Anti-Xa-E als sicheres Antithrombotikum (77).

Klinische Ergebnisse von Dahan et al. bestätigen, daß die subkutane Applikation von 1x60 mg Enoxaparin eine wirksame Thromboembolieprophylaxe bei internistischen Patienten über 65 Jahre darstellt, ohne ein nennenswertes Blutungsrisiko zu beinhalten (38).

II.2.8.2. Behandlung manifester Thrombosen mit NMH

Eine wichtige Indikation des Heparins stellt die Verhinderung des Thrombuswachstums und der Lungenembolie bei manifester Thrombose dar. Hierzu wird Heparin in hohen Dosierungen und intravenös in Form einer Dauerinfusion verabreicht, da nur so ein konstanter therapeutischer Wirkspiegel aufrechterhalten werden kann. Die hohen Dosen gehen aber mit einem vermehrten Blutungsrisiko einher, zudem ist das Verfahren aufwendig und erfordert einen stationären Aufenthalt der Patienten. Die klinischen Studien auf dem Gebiet der Sekundärprophylaxe wurden deshalb auch unter dem Gesichtspunkt einer verbesserten Praktikabilität durchgeführt.

Von Bratt et al. wurden 54 Patienten mit akuter tiefer Beinvenenthrombose in randomisierter Folge mit UFH oder Fragmin^R behandelt (21). Zunächst erhielten beide Gruppen je 240 Anti-Xa-E/kg/12h i.v. Wegen Blutungszwischenfällen bei 2 Patienten der Fragmin^R-Gruppe wurde die Studie nach Auswertung von 27 Patienten abgebrochen.

In der Fortsetzung (ebenfalls 27 Patienten) wurde die anfängliche Fragmin^R-Dosis auf 120 Anti-Xa-E/kg/12h halbiert, während die UFH-Dosis unverändert blieb. Die Kontrollphlebographie ergab bei 48% der mit UFH und 50% (240 Anti-Xa-E/kg/12h) bzw. 77% (120 Anti-Xa-E/kg/12h) der mit Fragmin^R behandelten Patienten verbesserte Ergebnisse. Eine Ausbreitung der Thrombosen wurde in 11% der Fälle unter UFH-Behandlung, nicht jedoch unter Fragmin^R beobachtet. Die Blutungsfrequenz nach 120 Anti-Xa-E/kg/12h Fragmin^R ähnelte der nach 240-IE/kg/12h UFH.

Im Rahmen einer weiteren randomisierten und offenen Studie untersuchte die gleiche Arbeitsgruppe, ob die lange Plasmahalbwertszeit und hohe Bioverfügbarkeit der Substanz ausgenutzt werden kann, um

manifeste Thrombosen subkutan mit Fragmin^R zu behandeln (20). Nach Auswertung von 41 mit Fragmin^R und 40 mit UFH behandelten Patienten war zu erkennen, daß die tägliche subkutane Verabreichung von 2x120 Anti-Xa-E/kg die Ausbreitung tiefer Beinvenenthrombosen wirksam verhindert und ebenso verträglich ist wie die Standardtherapie mit UFH. Wegen der Tendenz zu akkumulierenden Anti-Xa-Spiegel im Plasma mußten regelmäßig Kontrollmessungen vorgenommen werden. Ständige Dosisangleichung bewirkte konstante therapeutische Wirkspiegel.

Bei dem "ultra-NMH" CY 222 finden sich sogar Hinweise auf eine fibrinolytische Wirkung. In einer offenen, prospektiven Studie, in der Janvier et al. 30 Patienten mit tiefen Beinvenenthrombosen über einen Zeitraum von mindestens 10 Tagen mit 3x250 Anti-Xa-E/kg s.c. CY 222 behandelten, wurden bei 37% der Thrombosen anhand der Phlebographie vollständige Thrombolysen objektiviert, obwohl die Labortests keine fibrinolytische Aktivität widerspiegeln. Janvier et al. nehmen an, daß der durch CY 222 freigesetzte t-PA sehr rasch an den Thrombus gebunden wird und deshalb im Blut keine erhöhten t-PA-Spiegel gemessen werden (86).

Über die erfolgreiche Anwendung des Heparinfragments CY 222 bei Patienten mit akuter Lungenembolie berichten Quilliet et al. (118). Als sehr wirksam stellte sich die Dauerinfusion von 1.000 Anti-Xa-E/kg/24h heraus.

II.2.8.3. Klinische Erfahrungen mit NMH in der Dialyse

In der extrakorporalen Zirkulation wurde NMH bei Patienten unter Hämodialyse bzw. Hämofiltration eingesetzt.

Die Arbeiten von Schrader et al. haben gezeigt, daß mit dem NMH Fragmin^R die Fibrinbildung in der extrakorporalen Zirkulation genauso effizient gehemmt werden kann wie mit UFH, obwohl die globalen Gerinnungstests nur geringfügig verlängert waren (132, 133). Die Dosis (in Anti-Xa-E) betrug 1/2-1/3 der UFH-Dosis. Blutungskomplikationen traten in diesen Dosierungen auch bei besonders blutungsgefährdeten Patienten nicht auf. Auffällig waren die im Vergleich zu UFH deutlich

niedrigeren F.VIII-Spiegel sowie die schwächere Lipoproteinlipasefreisetzung unter Fragmin^R. Nach Schrader et al. könnte der geringere lipolytische Effekt wegen des möglichen Einflusses der Lipoproteinlipase und der freien Fettsäuren auf die Atherogenese ein Vorteil des NMH sein.

Auch Lane et al. (100) und Borm et al. (17) haben Fragmin^R erfolgreich bei Hämodialyse-Patienten angewandt, wobei Borm et al. in ihrer Arbeit die fehlende Hemmung der Thrombozytenadhäsion am Kollagen als günstigsten Effekt des NMH hervorheben.

Pouzol et al. beschreiben die ausgezeichnete Wirkung und Verträglichkeit von Enoxaparin in drei verschiedenen Dosierungen (0.75, 1.00 und 1.25 mg) bei 42 Hämodialyse-Patienten (117). Sämtliche Dialysen verliefen ohne Beeinträchtigung der extrakorporalen Zirkulation durch Fibrinabscheidungen und ohne hämorrhagische Komplikationen.

III. Zielsetzung

Die gegenwärtig vorliegenden klinischen Studien mit niedermolekularen Heparinen verschiedener Hersteller haben gezeigt, daß die therapeutische Breite in der Thromboembolieprophylaxe durch NMH nicht größer geworden ist. Es wird angenommen, daß die peri- und postoperativen Blutungen zumindest teilweise vermieden werden könnten, wenn präoperative Gabe und Operationsbeginn zeitlich weiter auseinanderlägen (bisher 2 Stunden). So gibt es bereits Hinweise, daß bei Applikation des NMH am Abend vor der Operation (12 Stunden präoperativ) ein wirksamer Thromboseschutz erzielt und die Rate der hämorrhagischen Komplikationen gesenkt werden können (9, 12, 64, 116).

Für das NMH CY 216 liegen diesbezüglich noch keine Erfahrungen beim Menschen vor, so daß die klinische Prüfung erst noch ansteht. Da aber nicht bekannt ist, wie lange das NMH CY 216 beim Menschen antithrombotisch wirksam ist und es auch keine zuverlässigen ex vivo-Parameter zur Beurteilung der antithrombotischen Wirkung gibt, erscheint es sinnvoll, vorher die Wirkungsdauer im Tiermodell näher zu bestimmen.

Experimentelle Untersuchungen zur Wirkungsdauer des NMH CY 216 wurden am Kaninchen (57) mit dem Thrombosemodell nach Wessler (154) und bei der Ratte (131) mit dem Kälte-induzierten Thrombosemodell nach Schmidt (128), Meng und Seuter (108, 109) durchgeführt, wobei das klinisch relevante 12-stündige Intervall nur am Kälte-Modell eigens untersucht worden ist. Nach Breddin ist es aber notwendig, zur Prüfung von antithrombotisch wirksamen Substanzen nicht nur ein, sondern zwei oder mehrere standardisierte, sich in der Thrombus-induktion und -bestimmung unterschiedlich verhaltende Modelle heranzuziehen (24). Denn nur so könne man eine möglichst große Sicherheit für die Relevanz der Befunde erhalten.

Um diese Forderung Breddins zu erfüllen, bedurfte es hinsichtlich der Wirkungsdauer von CY 216 einer weiteren Prüfung anhand eines anderen Thrombosemodells. Zu diesem Zweck wurde in der vorliegenden Arbeit das Thrombosemodell nach Harbauer (71) bei der Ratte an-

gewandt, welches sich durch eine standardisierte Thrombusinduktion, vor allem aber durch eine verbesserte Art der Thrombusbestimmung mittels der Doppler-Ultraschall-Technik auszeichnet. Endothelquetschung wirkt in diesem Modell thrombogen im Unterschied zum Wessler-Modell, in dem Thromben durch Applikation thromboplastischer Substanzen erzeugt werden. Im Kälte-Modell nach Schmidt, Meng und Seuter stimuliert eine durch lokale Unterkühlung bedingte Gefäßwandschädigung die Thrombusentstehung.

Die dopplersonographische Thrombusbestimmung im Thrombosemodell nach Harbauer erlaubt eine ständige Kontrolle des Blutflusses vom Zeitpunkt der Thrombusinduktion an. Diesen großen Vorteil haben weder das Wessler- noch das Kälte-Modell nach Schmidt, Meng und Seuter, denn die visuelle Beurteilung der Thromben im Wessler-Modell bzw. die Wägung der Thromben im Kälte-Modell nach Schmidt, Meng und Seuter stellen nur eine Momentaufnahme der Thrombusentwicklung dar. Das Thrombosemodell nach Harbauer ermöglicht daher eine sicherere Beurteilung antithrombotisch wirksamer Substanzen und ist somit für die Fragestellung dieser Arbeit besonders geeignet.

Um die Wirkungsdauer von CY 216 zu bestimmen, mußte zuerst der Nachweis erbracht werden, ob das NMH CY 216 in der vom Hersteller empfohlenen Dosierung in diesem Thrombosemodell antithrombotisch wirksam ist. Im Anschluß daran galt es, durch Variieren der Intervalle zwischen Injektion der Testsubstanzen und Thromboseinduktion herauszufinden, wie lange das NMH CY 216 im Vergleich zum herkömmlichen Heparin in der vorgegebenen Dosierung thrombosehemmend wirkt. Besonderes Interesse war darauf gerichtet, zu zeigen, ob das NMH CY 216 bei Applikation 12 Stunden vor Thromboseinduktion noch einen nennenswerten thromboprophylaktischen Effekt aufweist.

IV. Material und Methode

IV.1. Wahl des Thrombosemodells

Um die antithrombotische Wirkung von Substanzen beurteilen zu können, bedarf es der Durchführung experimenteller in vivo-Untersuchungen mittels geeigneter Thrombosemodelle.

Es fehlte in den letzten Jahrzehnten nicht an Versuchen, Methoden zur Erzeugung von Thromben zu entwickeln. Hierzu wurden alle 3 Faktoren der klassischen Virchowschen Trias der Thrombogenese (Veränderung der Gefäßwand, des Blutflusses und der Blutzusammensetzung) herangezogen, sowohl einzeln als auch in Kombination.

Die Gefäßwand wird am häufigsten chemisch, mechanisch, durch Kälte, elektrischen Strom, Laserstrahlen sowie durch Implantation von Fremdkörpern geschädigt. Modelle, bei denen durch Applikation von thrombogenen Wirkstoffen die Blutgerinnung selbst beeinflusst wird, kommen ebenfalls zur Anwendung. Unterstützend werden oft Blutflußveränderungen mittels Klemmen, Ligaturen und Clips vorgenommen (115, 128).

Da Heparin seine Wirkung besonders im nicht arteriellen Bereich entfaltet, ist es sinnvoll, einem venösen Thrombosemodell den Vorzug zu geben.

Für diese Fragestellung geeignet erschien das Thrombosemodell nach Harbauer et al., das auf 2 Komponenten der Virchowschen Trias beruht (71). Eine schmale zirkuläre Endothelquetschung führt zu einer Gefäßwandläsion, die die thrombogenetischen Prozesse in Gang setzt. Eine zusätzliche Fadenstenose soll das Thrombuswachstum fördern. Die durch Abscheidung von thrombotischem Material an der Endothelläsion hervorgerufenen Blutflußveränderungen registrieren Harbauer et al. mit der Doppler-Ultraschall-Methode (71).

Während initial vorwiegend Blutplättchen an der Thrombusentstehung beteiligt sind, bildet sich im weiteren zeitlichen Verlauf ein typischer roter Gerinnungsthrombus mit dichtgepackten Erythrozyten, Fibringe-

flecht und wenig Thrombozyten (71). Somit eignet sich dieses Modell speziell zur Prüfung von Antikoagulantien mit Wirkung auf die plasmatische Gerinnung.

Ferner erfordert es nur einen kleinen chirurgischen Eingriff mit einem entsprechend geringen Einfluß auf die Gerinnung.

Ein wesentlicher Vorteil gegenüber anderen Tiermodellen der venösen Thrombose besteht darin, daß thrombogene, thrombolytische und embolische Vorgänge kontinuierlich über einen gewählten Zeitraum beobachtet und aufgezeichnet werden können, ohne dabei in die Strombahn eingreifen oder die Gefäßwand beschädigen zu müssen.

Insgesamt zeichnet sich das hier angewandte Modell durch einen vergleichsweise geringen Aufwand aus und erlaubt daher die Untersuchung ausreichender Fallzahlen.

IV.2. Entwicklung der Methode

Ziel der Vorversuchsphase war es, eine möglichst hohe Thromboserate zu erhalten. Dies ist nämlich die Voraussetzung für eine exakte Auswertbarkeit der Versuche und Grundlage für den sicheren Nachweis der Wirksamkeit antithrombotischer Substanzen.

Zunächst stellte sich die Frage der Narkoseart. Zwei bei der Ratte angewandte Narkoseverfahren haben sich im Thrombosemodell nicht bewährt. Im Rahmen einer Dissertation konnte Lutter weder mit Xylazin-Ketamin noch mit Alfentanil-Etomidat zufriedenstellende Ergebnisse erzielen (103). Unter Xylazin-Ketamin war die Thromboserate zu gering, außerdem streuten die Thrombengewichte unerwartet stark. Bei Verwendung von Alfentanil-Etomidat schieden die Ratten blutigen Urin aus, so daß eine Beeinflussung der Blutgerinnung durch diese Kombinationsnarkose nicht auszuschließen ist. Aufgrund der sehr kurzen Wirkungsdauer kam dieses Narkotikum für das Thrombosemodell nach Harbauer ohnehin nicht in Frage.

Wegen der bekannten Nebenwirkung von Äther (Explosionsgefahr) wurde auf diese Narkoseform verzichtet.

Schließlich wurde die Chloralhydrat-Narkose gewählt, mit der Harbauer in Pilotversuchen gute Erfahrungen machte (70).

Eine Thromboserate von 30% in den ersten Vorversuchsserien war nicht akzeptabel. Deshalb wurden die Versuchsbedingungen geändert. Verkleinerung der Stenose durch einen Mandrin geringeren Durchmessers (von 0.8 mm auf 0.65 mm) und eine massivere Endothelalteration durch längeres Festziehen des Fadens (von 10 s auf 60 s) in Verbindung mit einer leicht abgewandelten Knotentechnik führten zu einer Zunahme der Thrombosehäufigkeit auf 80 %, wovon die Hälfte Verschlußthromben waren.

Im Laufe des Vorversuchsstadiums wurde das Modell noch dadurch verbessert, daß es mit Hilfe einer Federwaage nun möglich war, die Kraft, mit der die Ligatur um Gefäß und Mandrin festgezogen wird, zu messen und zu standardisieren.

IV.3. Versuchstiere

Es wurden männliche Albinoratten vom Stamm Wistar CHBB Thom mit Körpergewichten von 350-570 g verwendet. Vor dem Versuch wurden die Tiere in einem klimatisierten Stall (19-21 Grad Celsius Raumtemperatur, 50% Luftfeuchtigkeit, Tag-Nacht-Lichtschaltung im 12h-Intervall) in Gruppen zu je 6 Tieren in Makrolon-Käfigen Typ IV gehalten. Sie hatten bis zum Versuchstag freien Zugang zu pelletiertem Futter (Altromin^R-Haltungsdiät) und Leitungswasser (Tränkflaschen). Nach Injektion der Testsubstanzen wurden die Tiere in Einzelkäfige umgesetzt und verblieben bis zum Zeitpunkt der Anästhesieeinleitung im Tierstall.

IV.4. Anästhesie

Die Anästhesie erfolgte mittels intraperitonealer Injektion einer 3,6 %igen Chloralhydratlösung in einer Dosierung von 1 ml/100 g KG (139). Die Lösung wurde aus der Trockensubstanz durch Auflösung in Aqua ad iniectabilia hergestellt. Bei Anzeichen des Erwachens wurde die Narkose durch Nachinjektion kleiner Mengen verlängert.

IV.5 Präparation

Nach Anästhesieeintritt wurde die Ratte in Rückenlage fixiert. Es folgte ein Längsschnitt an der rechten ventralen Halsseite vom kranialen Ende des Sternums bis zum Kieferwinkel. Oberflächlich gelegene Muskulatur und Bindegewebe wurden soweit entfernt, bis die darunterliegende V.jugularis externa dextra zum Vorschein kam. Mit Hilfe zweier Nakajama-Pinzetten wurde das Gefäß auf einer Länge von ca. 1 cm von umliegendem Bindegewebe befreit. Ein Faden (Vicryl 5-0) wurde unter die Vene ca. 0.5 cm distal des Zusammenflusses ihrer beiden Hauptstämme hindurchgezogen.

IV.6. Messung der Blutflußgeschwindigkeit

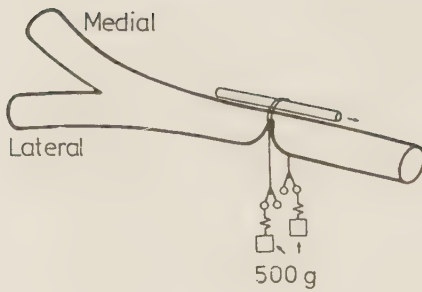
Zur Messung der Blutflußgeschwindigkeit wurde ein Ultraschall-Doppler-Gerät, Modell "Ultrasonic Flow Detector FD-3100" der Firma "Mausser-Institute for Physics in Medicine" verwendet. Nach Auftragen eines Kontaktgels wurde die Doppler-Sonde an die Vene mit Strahlrichtung auf den Ort des Fadendurchzugs so plaziert, daß ein maximales Flußgeschwindigkeitssignal aufgenommen wurde. Dies erreichte man in der Regel am besten dann, wenn die Doppler-Sonde ungefähr einen Winkel von 45° zum Gefäß einnahm. Das Signal wurde während der gesamten Versuchsdauer bei einem Papiervorschub von 0.25 mm/s kontinuierlich aufgezeichnet. Eine ständige akustische und optische Signalüberwachung war gewährleistet.

IV.7. Thromboseinduktion

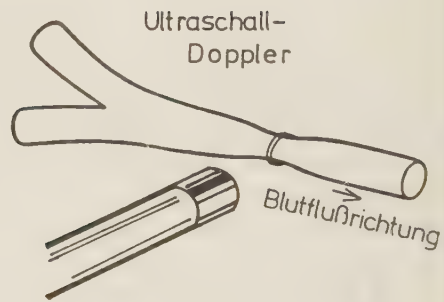
Nach Erreichen eines Fließgleichgewichts (etwa 5-10 min nach Beendigung der Präparation) wurde parallel an die rechte V.jugularis externa eine Kanüle mit 0.65 mm Außendurchmesser gelegt. Der Faden wurde um Vene und Mandrin einmal geknotet, so daß der Knoten leicht gleiten konnte. Anschließend faßte man ein Fadenende mit einer Klemme (Mosquito-Klemme), in die eine Federwaage mit Kilogramm-Einteilung eingehängt wurde, und zog an den Fadenenden mit 500 g eine Minute lang. Dann wurde der Knoten gesichert und der Mandrin herausgezogen. Es resultierte eine ringförmige Stenose von 0.65 mm lichter Weite mit Strömungsverlangsamung vor der Engstelle. Im Stenosering bestand

eine schmale zirkuläre Quetschung der Gefäßwand. Endothelschädigung und Veränderung der Strömungsverhältnisse an der ringförmigen Stenose wirkten thromboseauslösend. Durch rollende Bewegungen mit einer Pinzette wurde der Blutfluß wieder in Gang gesetzt (Abb.4).

V. jugularis ext.



a) Rechte V. jug. ext. einer Ratte mit angelegtem Mandrin und festgezogenem Faden.



b) Rechte V. jug. ext. mit Dopplersonde nach Stenosierung.

Abb:4: Schema der Thromboseinduktion nach Harbauer

IV.8. Interpretation der thrombosebedingten Änderungen des Flußgeschwindigkeitssignals

Das Flußsignal der V.jugularis externa dextra betrug nach Stenosierung ungefähr $2/3-1/3$ des prästenotischen Wertes. Da mit dem Doppler-Ultraschallgerät die Fließgeschwindigkeit des Blutes und nicht die Flußmenge pro Zeit gemessen wird, kann die Situation auftreten, daß das poststenotische Signal keine Verminderung gegenüber dem Ausgangssignal zeigt, ja sogar noch höher liegen kann als der prästenotische Wert (in Vorversuchen gesehen).

Langsame, kontinuierliche Abnahme des Signals wurde als zunehmende Thrombosierung, ein allmählicher Wiederanstieg des Signals als spontane Thrombolyse interpretiert.

Abrupte Signalsprünge in positiver Richtung können als plötzliche Änderungen der Fließgeschwindigkeit durch embolischen Abriß eines Thrombus oder Thrombusteiles gedeutet werden.

Wurde die Nulllinie erreicht, d.h. war kein meßbarer Blutfluß mehr vorhanden, wurde eine komplette thrombotische Okklusion angenommen.

Abb.5 gibt zwei Ausschnitte einer kontinuierlichen Flußsignalaufzeichnung wieder.

Der obere Ausschnitt stellt eine Situation unmittelbar nach Thrombusinduktion mit Thrombusbildung und embolischen Sprüngen dar. Der Kurvenverlauf im unteren Ausschnitt weist auf thrombogene und thrombolytische Prozesse hin.

VENA JUGULARIS EXTERNA DEXTRA

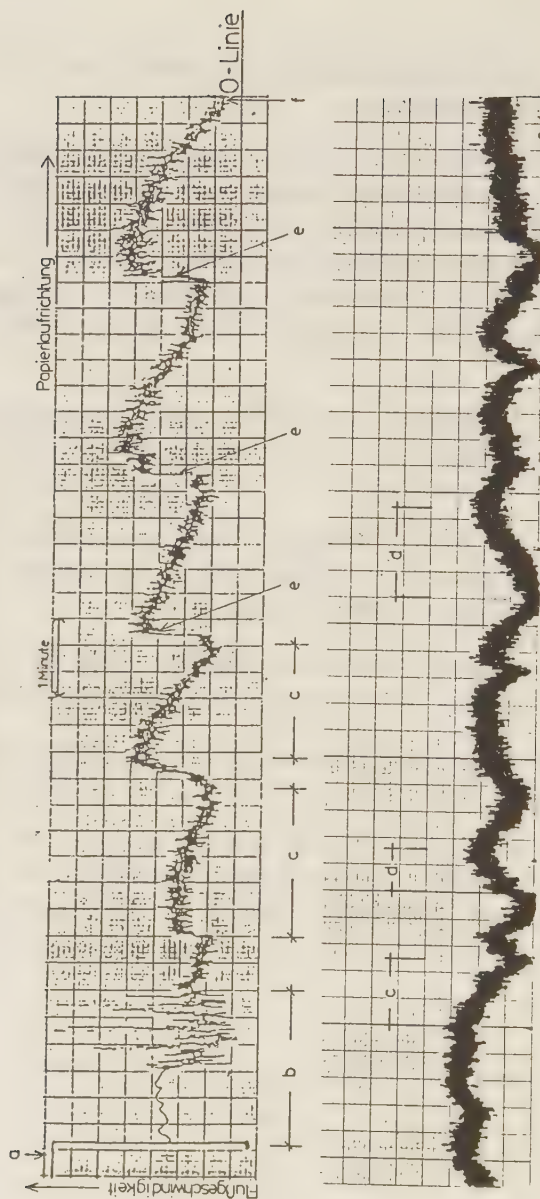


Abb. 5: Kontinuierliche Aufzeichnung des Flußgeschwindigkeitssignals der rechten V. jugularis externa, einer Raffe vor und nach Thrombusinduktion.

IV.9. Zuteilung und Dosierung der Substanzen

Zur Versuchsdurchführung wurden die Tiere randomisiert und einer der 3 Gruppen (A,B und C) zugeordnet. An jedem Versuchstag wurden sowohl Tiere aus der Kontrollgruppe als auch aus der CY 216 - und der UFH (Liquemin^R)-Gruppe für die Versuche verwendet.

Die niedermolekulare Heparinfraktion CY 216 der Firma Labaz wird mittels Ethanolpräzipitation aus Schweinedarmmukosa-Heparin hergestellt und hat ein mittleres Molekulargewicht von 4.500 Dalton. Die Anti-Xa/APTT-Ratio beträgt 4. Die Tiere der Gruppe A erhielten diese Substanz in einer vom Hersteller empfohlenen Dosis von 250 Anti-Xa-E/kg. Der Hersteller hatte Durchstechampullen zur Verfügung gestellt, die 25.000 Anti-Xa-E pro ml enthielten (Ch.-B.: 85049 DP). Die Substanz wurde mit Aqua ad iniectiones verdünnt, so daß 1 ml der Lösung 250 Anti-Xa-E niedermolekulares Heparin enthält. Es wurden dann 0.1 ml/100 g KG dieser Lösung entnommen und durch weitere Zugabe von Aqua ad iniectiones ein Injektionsvolumen von 0.14 ml/100 g KG hergestellt.

Als Referenzsubstanz diente Liquemin^R, ein unfraktioniertes Heparin-Natrium-Präparat der Firma Hoffmann-La Roche. Liquemin^R wird aus Schweinedarmmucosa gewonnen und weist ein mittleres Molekulargewicht von etwa 16.000 Dalton auf. Den Tieren der Gruppe B wurden 140-IE/kg gegeben. Hierzu mußte die Ausgangssubstanz (5.000-IE/0.5 ml) ebenfalls verdünnt werden. Es wurde eine Lösung hergestellt, die 100-IE/1 ml enthielt. Bei 140-IE/kg entsprach dies einer zu injizierenden Menge von 0.14 ml/100 g Rattengewicht.

Die Kontrolltiere der Gruppe C bekamen 0.14 ml/100 g KG physiologische Kochsalzlösung (phys. NaCl).

IV.10. Versuchsablauf

Die Injektion der jeweils frisch zubereiteten Testlösungen erfolgte subkutan. Entsprechend der Vorgehensweise in der operativen Medizin, wo die Patienten die erste Heparininjektion in der Regel 2h vor Operationsbeginn erhalten, wurden in der ersten Versuchsreihe die Testsubstanzen 2h vor Thromboseinduktion verabreicht.

Wegen des Wunsches in der operativen Thromboembolieprophylaxe, die präoperative Heparininjektion schon am Abend vor der Operation zu verabreichen, wurde in der zweiten Versuchsreihe die Thromboseinduktion erst 12h nach Injektion der Testsubstanzen durchgeführt. Da sich die guten klinischen Ergebnisse mit NMH anderer Hersteller in dem hier angewandten Rattenmodell nicht reproduzieren ließen, wurde im Anschluß daran versucht, die Frage nach der Wirkungsdauer durch schrittweises Vorgehen zu klären.

Nach Anästhesieeinleitung, Präparation und Messung des freien Blutflusses bis zum steady-state wurde die Stenosierung durchgeführt und eine Stunde lang das Flußgeschwindigkeitssignal registriert. Es folgten die Entnahme des freipräparierten Venensegments, die Eröffnung durch Längsinzision und die visuelle Kontrolle. Der Versuch endete mit der schmerzlosen Tötung des Versuchstieres in Narkose durch eine intra-peritoneale Injektion einer Barbiturat-Überdosis.

IV.11. Beurteilungskriterien

Zur Auswertung der Versuche wurden die aufgezeichneten Flußsignale und zusätzlich die Inspektion des Gefäßsegments mit makroskopischer Beurteilung der entstandenen Thromben herangezogen. Folgende Einteilung wurde gemacht:

Vollständige Verschlüsse d.h. okkludierende Thromben (+++) lagen vor, wenn kein Signal (0-Signal) mehr festgestellt werden konnte und die visuelle Prüfung einen positiven Befund ergab.

Ein großer, mit " ++ " klassifizierter Thrombus war bereits makroskopisch eindeutig nachweisbar, es konnte allerdings noch ein Signal registriert werden (kein 0-Signal).

Mit "+" (kleiner Thrombus) wurde der Versuch bewertet, wenn der makroskopische Befund negativ, im Verlauf der Flußsignalregistrierung nach Thromboseinduktion jedoch Zeichen erkennbar waren, die auf ein thrombotisches Geschehen hinwiesen (thrombogene, thrombolytische bzw. embolische Prozesse).

Gaben weder die Flußsignalaufzeichnung noch die visuelle Untersuchung einen Hinweis auf einen Thrombus bzw. auf ein thrombotisches Geschehen, wurde der Versuch mit " - " bewertet.

Zusätzlich wurde vermerkt, wieviele plötzliche Signalsprünge in positiver Richtung (embolische Thrombusabrisse) in jedem Versuch registriert worden waren.

IV.12. Statistische Auswertung

Für den Vergleich der Ergebnisse wurden sog. Kontingenztafeln erstellt und mit dem Chi-Quadrat-Test auf Unterschiede zwischen den Vergleichsgruppen geprüft.

V. Ergebnisse

Insgesamt wurden 130 Tiere in die Auswertung einbezogen, wovon 44 Tiere das NMH CY 216, 40 Tiere das UFH Liquemin^R und 46 Tiere physiologische Kochsalzlösung erhielten.

Tabelle I stellt die Ergebnisse bei Verabreichung der Prüfsubstanzen 2h vor Thromboseinduktion (2h-Gruppe) dar.

	A	B	C
	CY 216	Liquemin ^R	phys. NaCl
Anzahl der Versuche :	13	11	14
Okklusion (+++):	0	0	8
Großer Thrombus (++):	3	0	4
Kleiner Thrombus (+):	1	0	0
Kein Thrombus (-):	9	11	2

Der Unterschied zwischen der Placebo-Gruppe einerseits und jeder einzelnen der beiden Heparin-Gruppen andererseits ist statistisch signifikant (Liquemin^R/phys. NaCl: $p < 0.05$; CY 216/phys. NaCl: $p < 0.01$).

Tabelle II zeigt die Ergebnisse bei Verabreichung der Prüfsubstanzen 12h vor Thromboseinduktion (12h-Gruppe).

	A	B	C
	CY 216	Liquemin ^R	phys. NaCl
<u>Anzahl der Versuche</u> :	11	10	12
<u>Okklusion</u> (+++):	3	5	6
<u>Großer Thrombus</u> (++):	5	3	5
<u>Kleiner Thrombus</u> (+):	2	2	1
<u>Kein Thrombus</u> (-):	1	0	0

Ein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen besteht nicht.

Tabelle III zeigt die Ergebnisse bei Verabreichung der Prüfsubstanzen 4h vor Thromboseinduktion (4h-Gruppe).

	A	B	C
	<u>CY 216 Liquemin^R phys.NaCl</u>		
<u>Anzahl der Versuche :</u>	<u>10</u>	<u>10</u>	<u>10</u>
<u>Okklusion (+++):</u>	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>5</u>
<u>Großer Thrombus (++):</u>	<u>0</u>	<u>3</u>	<u>1</u>
<u>Kleiner Thrombus (+):</u>	<u>2</u>	<u>1</u>	<u>3</u>
<u>Kein Thrombus (-):</u>	<u>7</u>	<u>4</u>	<u>1</u>

Der Unterschied zwischen der CY 216-Gruppe und der Placebo-Gruppe ist signifikant ($p < 0.05$).

Ein signifikanter Unterschied zwischen der Liquemin^R- und CY 216-Gruppe bzw. Liquemin^R- und Placebo-Gruppe besteht nicht.

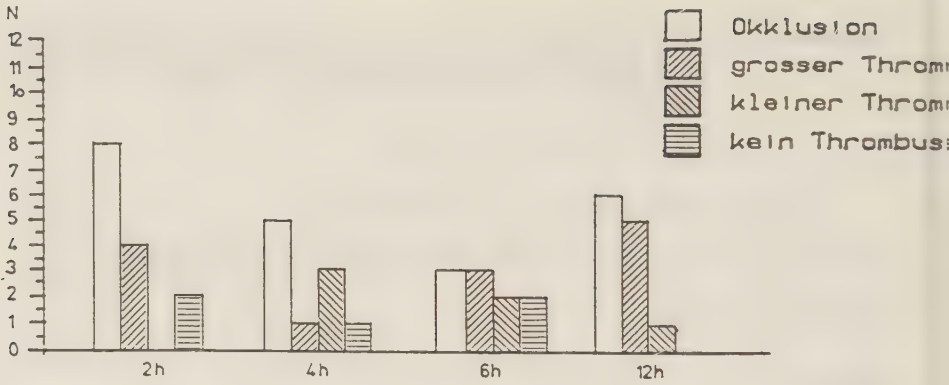
Der Tabelle IV sind die Ergebnisse bei Verabreichung der Prüfsubstanzen 6h vor Thromboseinduktion (6h-Gruppe) zu entnehmen.

	A	B	C
<u>CY 216 Liquemin^R phys.NaCl</u>			
Anzahl der Versuche :	10	9	10
Okklusion (+++):	3	3	3
Großer Thrombus (++):	3	2	3
Kleiner Thrombus (+):	1	1	2
Kein Thrombus (-):	3	3	2

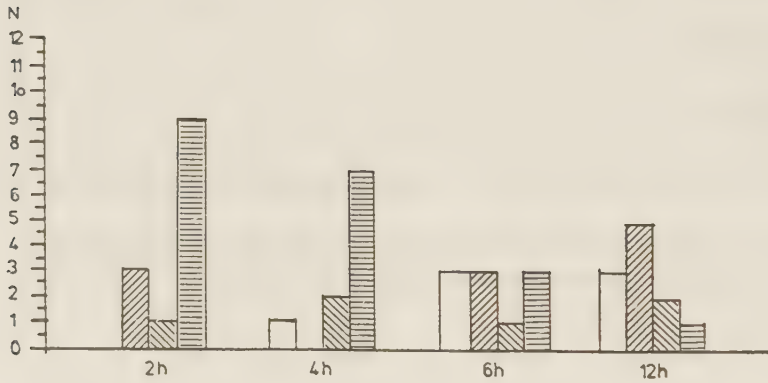
Statistisch unterscheiden sich die 3 Vergleichsgruppen nicht signifikant.

In Abb.6 sind die Versuchsergebnisse der 2-, 4-, 6- und 12h-Gruppe nochmals übersichtlich in Form einer Graphik dargestellt.

phys. NaCl - Loesung



NMH Cy 216



UFH - Liquemin

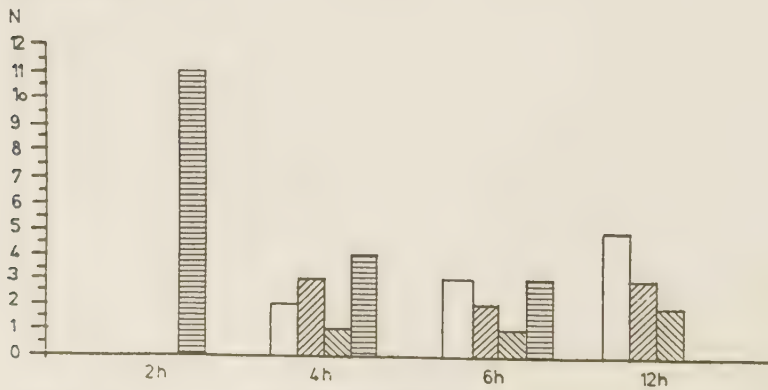


Abb. 6: Zusammenfassende Darstellung der Versuchsergebnisse

Das Ergebnis der Berechnung des durchschnittlichen Okklusionsgrades jeder einzelnen Testgruppe geht aus Abb.7 hervor. Sie zeigt einen sprunghaften Anstieg des Okklusionsgrades bei Applikation von CY 216 6h vor Thromboseinduktion.

Im Gegensatz hierzu beobachtet man in der Liquemin^R-Gruppe bereits nach 4h eine deutliche Zunahme des Okklusionsgrades.

Ein konstant hoher Okklusionsgrad wird für physiologische Kochsalzlösung errechnet.

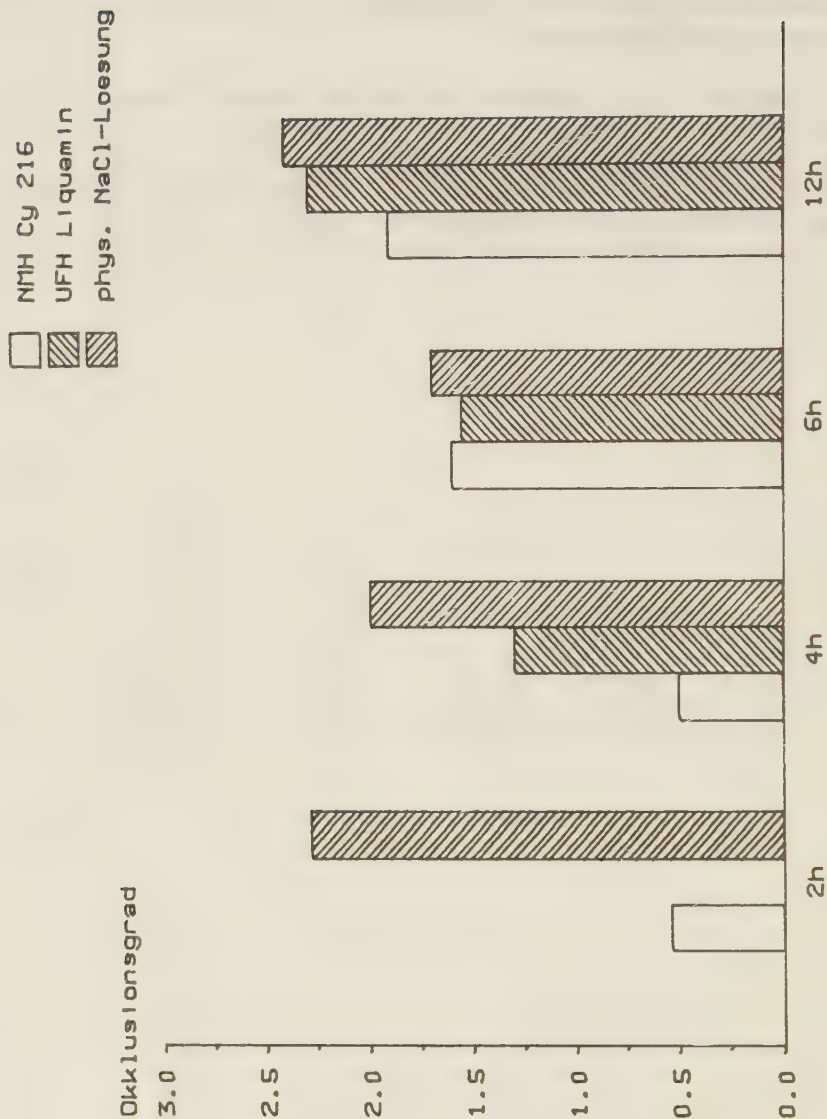


Abb. 7: Graphische Darstellung des durchschnittlichen Okklusionsgrades

Tabelle V zeigt das Ergebnis der Auszählung der plötzlichen Signalsprünge in positiver Richtung durch Thrombusablösung (Anzahl der embolischen Sprünge).

	A	B	C
	<u>CY 216 Liquemin^R phys.NaCl</u>		
2h-Gruppe	: 14	0	3
12h-Gruppe	: 2	14	5
4h-Gruppe	: 21	11	4
6h-Gruppe	: 15	7	20
Summe	: 52	32	32

Im Chi-Quadrat-Test ist ein signifikanter Unterschied der Emboliehäufigkeit zwischen der CY 216-Gruppe einerseits und jeder einzelnen der beiden anderen Vergleichsgruppen nachweisbar (CY 216/Liquemin^R: $p < 0.001$; CY 216/phys. NaCl: $p < 0.001$).

VI. Diskussion

VI.1. Diskussion der Methode

Neue antithrombotisch wirksame Substanzen müssen einer tierexperimentellen Prüfung hinsichtlich Wirksamkeit und Verträglichkeit unterzogen werden, da es hierfür derzeit keine zuverlässigen in vitro- bzw. ex vivo-Parameter gibt. Für diesen Zweck wurden zahlreiche Thrombosemodelle am Tier entwickelt, deren Prinzip auf der Erzeugung von arteriellen oder venösen Thromben durch verschiedene, standardisierte thrombogene Stimuli beruht. Man ist auf derartige Thrombosemodelle angewiesen, weil ein Zustand erhöhter Thrombosebereitschaft, wie er bei Risikopatienten vorzufinden ist, am Tier, insbesondere an der Ratte, nicht sicher hergestellt werden kann.

Die Ergebnisse der Kontrolltiere zeigen, daß es mit der Methode nach Harbauer et al. (71) möglich ist, durch den synergistischen Effekt zweier Komponenten der Virchowschen Trias mit großer Sicherheit Thromben zu erzeugen. Bei 41 der insgesamt 46 Kontrolltiere konnte ein venöser Thrombus induziert werden, was einer Thromboserate von annähernd 90% entspricht. Knapp die Hälfte davon waren okkludierende Thromben.

Die Vorteile des Modells liegen in der einfachen Handhabung, dem geringen Operationstrauma und der damit verbundenen minimalen unspezifischen Aktivierung der plasmatischen Gerinnung durch Freisetzung thromboplastischer Wirkstoffe sowie in der kontinuierlichen Beobachtung und Registrierung der thrombogenetischen Prozesse vom Zeitpunkt der Induktion bis zur Thrombusentnahme. Ferner dürfte die ringförmige Quetschung des Endothels einem klinischen Trauma näher kommen als Gefäßwandirritationen, die durch Chemikalien oder Kälte bedingt sind. Das Problem der Standardisierung der Kraft, mit der die Ligatur festgezogen wird, konnte durch Zuhilfenahme einer Federwaage auf ein geringes Maß reduziert werden. Das Modell nach Harbauer erfüllt demnach im wesentlichen die Anforderungen, die von Breddin an ein Thrombosemodell gestellt werden (24).

In der Vorversuchsphase stellte sich heraus, daß die Thrombusbeurteilung allein anhand der Blutflußveränderung im alterierten Gefäß nicht aussagekräftig genug ist. Veränderungen der Kreislauffunktion, des Gefäßtonus oder der Atmung können leicht die Blutflußgeschwindigkeit beeinflussen und zu falschen Ergebnissen führen. So konnte in einigen Fällen ein O-Signal registriert werden, ohne daß makroskopisch ein Thrombus nachweisbar war. Als mögliche Ursache dieser Blutstase kommt ein durch die Manipulation bedingter Gefäßspasmus in Betracht. Aus diesem Grund wurde zusätzlich eine visuelle Kontrolle am Ende des Beobachtungszeitraums vorgenommen und in die Beurteilung mit einbezogen.

Nicht immer ganz unvermeidbar, vor allem wenn das Signal der V.jugularis abgeschwächt war, waren Störungen durch die Signale anderer, benachbarter Gefäße.

VI.2. Diskussion der Ergebnisse

Das Ziel, die Thromboembolieprophylaxe mit NMH noch wirksamer, noch verträglicher und noch einfacher zu machen, ist nur zum Teil erreicht worden. Die zahlreichen klinischen Studien mit niedermolekularen Heparinen verschiedener Hersteller haben zu dem Ergebnis geführt, daß NMH-Präparationen aufgrund ihrer längeren Halbwertszeit mit einer geringeren Zahl von Injektionen auskommen. In der operativen Medizin beispielsweise konnte die Anzahl der Injektionen von 2 bzw. 3 Injektionen auf eine Injektion pro Tag reduziert werden.

Hinsichtlich Verträglichkeit konnten die Erwartungen nur bedingt erfüllt werden. So konnte das peri- und postoperative Blutungsrisiko im Vergleich zu UFH nicht entscheidend vermindert werden. Klinische Studien von Schmitz-Huebner et al.(130) und Koller et al.(97) mußten wegen einer zu hohen Rate an hämorrhagischen Komplikationen sogar abgebrochen werden.

Ein Grund für das Auftreten von vermehrten Blutungen bei der Thromboembolieprophylaxe mit NMH liegt in der Verabreichung zu hoher Dosen. Dies rührt daher, daß es derzeit kein einheitliches Standardisierungsverfahren für die verschiedenen NMH-Präparate gibt.

Es ist somit nicht möglich, die angegebenen Einheiten miteinander zu vergleichen. Cy 216 und Fragmin^R z.B. werden mit Hilfe zweier unterschiedlicher Anti-Xa-Assays standardisiert, das NMH von Sandoz mit Hilfe eines APTT-Assays. Dosisangaben sind deshalb spezifisch für die jeweilige NMH-Präparation und können nicht auf andere Präparate übertragen werden. Die Standardisierung konventionellen Heparins gemäß der United States Pharmacopoe (USP) läßt sich für NMH nicht problemlos übernehmen (6, 135).

Ferner wird angenommen, daß peri- und postoperative Blutungen weiter gesenkt werden können, wenn der Abstand zwischen präoperativer NMH-Gabe und Operationsbeginn (bisher 2 Stunden) vergrößert werden würde. So gelang es Bergqvist et al., durch Verabreichung des NMH Fragmin^R am Abend vor der Operation (12 Stunden präoperativ) die Rate der postoperativen Blutungen signifikant zu senken (12). Haas et al. erzielten bei Hochrisiko-Patienten mit dem gleichen Applikationsschema für das NMH-Sandoz sogar einen noch besseren antithrombotischen Effekt als mit dem Standard-Intervall von 2 Stunden (64). Ausgehend von diesen Ergebnissen ist es von Interesse, zu zeigen, ob durch Vorziehen der präoperativen Gabe die Wirksamkeit des NMH CY 216 noch verbessert und das Blutungsrisiko noch weiter gesenkt werden können. Da jedoch nicht bekannt ist, wie lange die Wirkungsdauer von CY 216 beim Menschen ist, und von ex vivo-Parametern, wie der Anti-Xa-Aktivität oder der APTT, nicht sicher auf in vivo-Wirkungen geschlossen werden kann, bedarf es vor der klinischen Prüfung einer näheren Bestimmung der Wirkungsdauer von CY 216 anhand geeigneter Tiermodelle. Hierzu wurde in dieser Arbeit das Thrombosemodell nach Harbauer gewählt.

Zunächst war es erforderlich nachzuweisen, ob CY 216 in dem Thrombosemodell nach Harbauer bei der Ratte antithrombotisch wirksam ist. Zu diesem Zweck wurde entsprechend der Vorgehensweise in der operativen Medizin den Tieren in der ersten Versuchsreihe 2h vor Thromboseinduktion entweder die Testsubstanz CY 216, Liquemin^R als Referenzsubstanz oder physiologische Kochsalzlösung verabreicht.

Die Ergebnisse zeigen, daß durch das NMH ebenso wie durch das konventionelle Heparin die Thromboserate im Vergleich zur Placebo-Gruppe

signifikant reduziert werden konnte. Obwohl in der Liquemin^R-Gruppe kein Thrombus festzustellen war im Gegensatz zur CY 216-Gruppe, in der drei große und ein kleiner Thrombus auftraten, war ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Heparin-Gruppen nicht nachweisbar.

Die Liquemin^R-Dosis betrug 140-IE/kg. Ungefähr die gleiche Dosis erhält ein Patient der Allgemeinchirurgie täglich zur Thromboembolieprophylaxe, jedoch auf zwei Injektionen verteilt. Wahrscheinlich ist der sehr gute antithrombotische Effekt des Liquemins^R auf diese relativ hohe Einzeldosis zurückzuführen.

Die antithrombotische Wirksamkeit von CY 216 wurde auch von Fareed et al. im Tierversuch geprüft (54, 57). Dabei kam das Thrombosemodell nach Wessler in modifizierter Form zur Anwendung. Injektion verschiedener thromboplastischer Wirkstoffe und Blutstase wirkten in diesem Modell thromboseauslösend. Fareed verabreichte Kaninchen i.v. oder s.c. äquivalente Mengen CY 216 bzw. UFH sowohl vor als auch unmittelbar nach Thromboseinduktion. Bei hohen Dosen (250 und 500 Anti-Xa-E/kg) verhinderten CY 216 und UFH die Thromboseentstehung in dem ligierten Gefäßsegment gleichermaßen, während in den unteren Dosisbereichen (65 und 125 Anti-Xa-E/kg) der Thromboseschutz unter CY 216 besser war. Der antithrombotische Effekt war allerdings vom thrombogenen Stimulus abhängig. Die Gerinnungsaktivierung durch Humanserum konnte weder durch CY 216 noch durch UFH wirksam unterdrückt werden.

Doutremepuich et al. verglichen die antithrombotische Potenz von niedrig dosiertem CY 216 und UFH in einem Rattenmodell, wobei die Thromboseinduktion allein durch Ligieren der V.cava caudalis erfolgte (47). In einem Dosisbereich von 0.83 bis 1.66 mg/kg (entsprechend 166-333 Anti-Xa-E/kg) hemmte CY 216 das Thrombuswachstum, UFH zeigte bei diesen niedrigen Dosen keine antithrombotische Wirkung mehr.

Unter Zuhilfenahme des von Carter et al. (33) beschriebenen Kaninchenmodells untersuchte die Arbeitsgruppe um Doutremepuich auch die hämorrhagischen Eigenschaften dieser Heparinfraktion (48). Es bestand kein Unterschied zwischen den Blutungszeiten der mit CY 216 und physiologischer Kochsalzlösung behandelten Tiere, wohingegen unter UFH

die Blutung erst deutlich später zum Stillstand kam. APTT und Thrombinzeit wurden von CY 216 nur wenig beeinflusst.

Die tierexperimentellen Untersuchungen mit verschiedenen niedermolekularen Heparinen haben zu der Erkenntnis geführt, daß die antithrombotische Wirksamkeit des Heparins und seiner Fraktionen nicht allein auf der Hemmung der plasmatischen Gerinnung durch Inaktivierung des F.Xa oder F.IIa beruht. Als weitere mögliche Wirkmechanismen werden vor allem Wechselwirkungen mit dem Endothel, ein indirekter fibrinolytischer Effekt sowie die Verminderung der Adhäsivität der Thrombozyten genannt (58).

Extern zugeführtes Heparin wird von den Endothelzellen gegen einen Konzentrationsgradienten aufgenommen, so daß in vivo die Heparinkonzentration im Gefäßendothel bis zu 1000fach höher als im Blut ist. Dieses gebundene Heparin vermehrt aufgrund seiner hohen negativen Ladungsdichte das elektronegative Potential des Gefäßendothels und trägt somit zu einer Verstärkung der Athrombogenität der Gefäßwand bei (89).

Es stehen noch andere Mechanismen des Heparins zur Diskussion, die die antithrombotische Wirkung infolge der Endothelbindung von Heparin ebenfalls erklären könnten, wie z.B. die Hemmung der Kontaktphase des endogenen Gerinnungssystems oder die Freisetzung endothelständiger Glykosaminoglykane.

CY 216 besitzt eine genauso hohe Affinität zu den Bindungsstellen am Endothel wie UFH. Zu diesem Ergebnis kamen Gensini et al., als sie mit Hilfe radioaktiv markierter Heparinproben die endotheliale Bindungskinetik und -kapazität von CY 216 und UFH verglichen. In der Aortenwand von Kaninchen wurden für beide Heparine 300fach höhere Konzentrationen gemessen als im Blut (60).

Vairel et al. schließen aus ihren Ergebnissen, daß der antithrombotische Effekt von CY 216 zumindest teilweise auf die Beeinflussung des fibrinolytischen Systems zurückzuführen ist (141). Im Tierexperiment konnten sie nämlich die antithrombotische Wirkung von CY 216 durch Gabe von Antifibrinolytika aufheben. Der fibrinolytische Effekt soll

dabei indirekt über eine Freisetzung des gewebeständigen Plasminogen-aktivators zustande kommen.

Dies könnte auch erklären, warum es in der CY 216-Gruppe häufiger zu embolischen Thrombusabrissen kam als in der Liquemin^R-Gruppe (siehe Tab.V). Vermutlich führt die stärkere fibrinolytische Aktivität in Gegenwart von CY 216 zu weniger stabilen Thromben und dadurch zu einem leichteren Abreißen von Thromben oder Thrombusteilen.

Aus klinischer Sicht ist eine längere antithrombotische Wirksamkeit aus mehreren Gründen wünschenswert.

Eine Thromboseprophylaxe, die nur noch eine Subkutaninjektion pro Tag beinhaltet, stellt eine wesentlich geringere Belastung des Patienten in der postoperativen Rekonvaleszenzphase dar und geht mit einer nicht zu übersehenden Zeitersparnis für das Pflegepersonal einher.

Zudem bietet sich eine alternative Behandlungsmöglichkeit bei ambulanten Patienten, wenn Nebenwirkungen bei der Therapie mit konventionellen Antikoagulantien bestehen.

Auch gibt es Hinweise, daß durch die Verabreichung der ersten Heparininjektion am Abend vor der Operation das peri- und postoperative Blutungsrisiko vermindert werden kann (9, 12, 64, 116).

Aus diesem Grund wurden in einer weiteren Versuchsreihe die Testsubstanzen 12h vor Thromboseinduktion injiziert. Ein thromboprophylaktischer Effekt wurde jedoch bei diesem Applikationsintervall in keiner der beiden Heparin-Gruppen gesehen.

Aus den Ergebnissen ist zu schließen, daß die Wirkungsdauer von CY 216 in der vorgegebenen Dosierung zwischen 4 und 6 Stunden liegt. Die 4h-Ergebnisse der mit Liquemin^R behandelten Tiere sind nicht eindeutig interpretierbar, da ein signifikanter Unterschied weder zur CY 216- noch zur phys. NaCl-Gruppe besteht. Es ist allerdings nicht zu übersehen, daß die antithrombotische Wirkung des Liquemins^R nach 4 Stunden merklich nachgelassen hat. Zur näheren Bestimmung der Wirkungsdauer des Liquemins^R bedarf es offensichtlich noch höherer Fallzahlen.

Die Frage, ob das NMH CY 216 in der gewählten Dosierung von 250 Anti-Xa-E/kg KG, subkutan verabreicht, länger antithrombotisch wirksam ist als das UFH Liquemin^R (140 IE/kg KG), kann somit nicht sicher beantwortet werden.

In einem Kaninchenmodell verglichen Fareed et al. CY 216 und UFH bezüglich ihrer Wirkungsdauer, wobei verschiedene Dosierungen und unterschiedliche thrombogene Stimuli eingesetzt wurden (57). Sie stellten fest, daß CY 216 vor allem bei niedrigen Dosen länger antithrombotisch wirkte als UFH. Am wirksamsten erwies sich das NMH gegenüber PCC/RVV und Kaninchenserum. Bei Verwendung dieser thrombogenen Substanzen war mit dem NMH (1 mg/kg s.c.) ein guter Thromboseschutz über einen Zeitraum von 6 Stunden zu erzielen, während UFH bei, gewichtsbezogen, gleicher Dosierung schwächer antithrombotisch wirksam war.

Diese Ergebnisse machen deutlich, daß die Wirksamkeit und Wirkungsdauer antithrombotischer Substanzen im Tierexperiment wesentlich davon abhängen, wie der Thrombus erzeugt wird. Fareed et al. benutzten zur Thromboseinduktion Substanzen, die in erster Linie den F.X aktivieren. Die im Vergleich zu UFH deutlich bessere und längere thrombosehemmende Wirkung von CY 216 im niedrigen Dosisbereich wird hierdurch verständlich (57).

Hinzu kommt noch, daß speziesbedingte Abweichungen bezüglich der Resorption aus dem subkutanen Gewebe, der Metabolisierung und bezüglich Interaktionen mit körpereigenen Proteinen die Bioverfügbarkeit und Wirkungsdauer des Heparins und seiner Fraktionen verändern können. Dies ist zu berücksichtigen, wenn man die Ergebnisse verschiedener Tierarten vergleicht.

Die antithrombotische Wirkung von Cy 216 bei einem Applikationsintervall von 12h wurde auch in einem arteriellen Thrombosemodell bei der Ratte untersucht. Subkutane Injektion von 250 Anti-Xa-E/kg Cy 216 2h vor Thromboseinduktion führte zu einer signifikanten Reduzierung der Thrombengewichte. Ein über 12 Stunden andauernder antithrombotischer Effekt konnte auch in dieser Arbeit nicht demonstriert werden. Nähere Angaben zur Wirkungsdauer von CY 216 sind dieser Arbeit nicht

zu entnehmen, da nur diese zwei Applikationsintervalle untersucht worden sind (131).

Die verlängerte Wirkungsdauer von NMH-Präparationen wird ihren verbesserten pharmakokinetischen Eigenschaften zugeschrieben.

Harenberg et al. fanden für Cy 216 in Humanplasma eine Halbwertszeit, gemessen anhand der F.Xa-Inhibierung, von 150 min nach intravenöser und von 240 min nach subkutaner Verabreichung. Im Vergleich dazu lag die Halbwertszeit für die unfractionierte Präparation bei 50 bzw. 120 min. Die Bioverfügbarkeit nach subkutaner Applikation war mit über 90% fast 4mal so hoch wie die von UFH (74).

Die günstigeren pharmakokinetischen Eigenschaften werden zum einen darauf zurückgeführt, daß niedermolekulare Heparine in geringerem Ausmaß als UFH durch PF 4 und histidinreiches Glykoprotein inaktiviert werden.

Als Folge der Wechselwirkung mit dem Gefäßendothel könnten durch niedermolekulare Heparine auch vermehrt Substanzen mit Anti-Xa-Aktivität freigesetzt werden, die sich der Neutralisierung durch Heparinantagonisten weitgehend entziehen. Diskutiert werden endogene Glykosaminoglykane, insbesondere Heparansulfat, Lipoproteinlipase und eine hepatische Triglyceridlipase (42, 43). Die Beobachtung, daß im Plasma noch Anti-Xa-Spiegel gemessen werden können, wenn das NMH selbst nicht mehr nachweisbar ist, sowie die Diskrepanz zwischen in vitro und ex vivo Anti-Xa-Aktivität deuten auf einen solchen sekundären Effekt am Gefäßendothel hin.

Ferner wird ein unterschiedlicher Eliminierungsmechanismus angenommen, der ebenfalls zu den lang anhaltenden Anti-Xa-Plasmaspiegeln beitragen könnte (15, 59, 107). Nach den bisherigen Erkenntnissen liegen der Eliminierung des UFH wahrscheinlich zwei Mechanismen zugrunde. Primär erfolgt die Eliminierung von exogenem Heparin dadurch, daß es vom Gefäßendothel und vom übrigen retikuloendothelialen System aufgenommen wird. Dort findet die Metabolisierung statt, deren genauer Ablauf noch nicht hinreichend bekannt ist. Vermutlich sind lysosomale Enzyme am Abbau des Heparins beteiligt (10, 138). Im Urin

findet man hauptsächlich gerinnungsphysiologisch unwirksame, desulfatierte Heparinbruchstücke.

Dieser Mechanismus sorgt für eine rasche Eliminierung des Heparins aus dem Blut und dominiert bei niedrigen Dosen. Verabreicht man Heparin in hohen Dosen, kommt es vermehrt zur renalen Ausscheidung von unverändertem Heparin. In diesem Fall wird der zelluläre Clearance-Mechanismus als gesättigt betrachtet (16, 41, 46).

Im Unterschied hierzu werden niedermolekulare Heparine unabhängig von der Höhe der Dosis in größeren Mengen als UFH direkt über die Nieren ausgeschieden.

Beidseitige Nephrektomie führt zu einer Verlängerung der Halbwertszeit der F.Xa-Inhibierung, die bei NMH deutlich ausgeprägter ist als bei UFH (30). Demnach käme es unter NMH zu einer schnelleren Sättigung des zellulären Clearance-Mechanismus.

Außerdem konnte anhand von Endothelzellkulturen und radioaktiv markiertem Heparin gezeigt werden, daß aus einer Heparinpräparation bevorzugt die hochmolekularen Anteile von der Endothelzelle aufgenommen werden (10, 138, 142). Diese Ergebnisse lassen vermuten, daß für die Eliminierung von NMH im wesentlichen der renale Clearance-Mechanismus verantwortlich ist.

Aufgrund der Ergebnisse der vorliegenden tierexperimentellen Studie lassen sich folgende Schlußfolgerungen ziehen.

1. Auch anhand des Thrombosemodells nach Harbauer konnte bei der Ratte die antithrombotische Wirksamkeit von CY 216 nachgewiesen werden. Statistisch gesehen war kein Unterschied zum UFH Liquemin^R festzustellen (2h-Gruppe).
2. Die Ergebnisse der 12h-Gruppe lassen darauf schließen, daß mit der Gabe von CY 216 bereits am Abend vor der Operation dem Patienten kein ausreichender Thromboseschutz am Operationstag mehr gewährt werden kann. Um noch sicher thromboprophylaktisch wirken zu können, sollte aufgrund dieser Ergebnisse CY 216 nicht länger als 5, besser 4 Stunden vor der Operation verabreicht werden.

3. Unter CY 216 traten signifikant häufiger embolische Prozesse auf als unter Liquemin^R. Dies spricht für einen fragileren Aufbau der Thromben bzw. für eine stärkere fibrinolytische Aktivität in Gegenwart von CY 216.

4. Mit dem Thrombosemodell nach Harbauer ist es möglich, unter standardisierten Bedingungen mit großer Sicherheit Thromben zu induzieren. Durch die ständige Kontrolle des Blutflusses mit Hilfe der Doppler-Ultraschall-Methode können auch Thrombosen erfaßt werden, die sich kurz nach Thrombusinduktion bilden, infolge thrombolytischer bzw. embolischer Vorgänge zum Zeitpunkt der Gefäßinspektion aber nicht mehr nachweisbar sind. Eine bessere Beurteilung der Wirksamkeit antithrombotischer Substanzen wird hierdurch gewährleistet, weshalb die mit diesem Modell erzielten Ergebnisse wesentlich zum Wirkprofil des NMH CY 216 beitragen und von klinischer Relevanz sein können.

VII. Zusammenfassung

Mit Hilfe des Thrombosemodells nach Harbauer, das auf der Kombination zweier Komponenten der Virchowschen Trias beruht (Veränderung der Gefäßwand und des Blutflusses), wurden in der Vena jugularis externa dextra von 130 Wistar-Ratten Thrombosen induziert. Zirkuläre Endothelquetschung und Blutflußverlangsamung stimulierten die Thrombusbildung. Die Thromben wurden mittels der Doppler-Ultraschall-Technik und makroskopisch beurteilt.

Unter diesen experimentellen Bedingungen wurden die antithrombotische Wirksamkeit und Wirkungsdauer von unfractioniertem Heparin (Liquemin^R) in der Dosierung von 140 IE/kg KG und der niedermolekularen Heparinfraktion CY 216 in der Dosierung von 250 Anti-Xa-E/kg KG miteinander verglichen. Die Kontrolltiere erhielten physiologische Kochsalzlösung.

Die Applikation der Prüfsubstanzen erfolgte zu bestimmten Zeitpunkten (2h, 4h, 6h und 12h) vor Thromboseinduktion jeweils subkutan.

Die Untersuchungen führten zu dem Ergebnis, daß die niedermolekulare Heparinfraktion CY 216 in der gewählten Dosierung in bezug auf die antithrombotische Wirksamkeit dem unfractionierten Heparin ebenbürtig ist (2h-Gruppe).

Die Frage, ob das niedermolekulare Heparin CY 216 länger antithrombotisch wirksam ist als das konventionelle Heparin Liquemin^R, konnte in dieser Studie nicht sicher beantwortet werden. CY 216 zeigte bei Gabe 4 Stunden vor Thromboseinduktion einen signifikanten antithrombotischen Effekt, während unter dem unfractionierten Heparin bereits nach 4 Stunden ein merkliches Nachlassen der thrombosehemmenden Wirkung beobachtet werden konnte. Statistisch konnte jedoch weder zwischen der Liquemin^R- und der CY 216-Gruppe noch zwischen der Liquemin^R- und der Kontrollgruppe ein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

Bei Applikation der Prüfsubstanzen 6 und 12 Stunden vor Thrombose-induktion konnte weder CY 216 noch Liquemin^R die Thrombusbildung nennenswert verhindern.

Aus diesen Ergebnissen ist zu schließen, daß die Wirkungsdauer des niedermolekularen Heparin CY 216 in der empfohlenen Dosis zwischen 4 und 6 Stunden liegt.

Anhand der aufgezeichneten Doppler-Signale konnte bei den mit CY 216 behandelten Tieren ein signifikant häufigeres Auftreten von Embolien festgestellt werden.

VIII. Summary

Experimental investigations on the duration of the antithrombotic effect of the low molecular weight heparin CY 216 by the thrombosis model according to Harbauer in the rat.

Thrombi were induced in the right external jugular vein of 130 Wistar rats by means of a thrombosis model based on the combination of two components of Virchow's triade (changes of vessel wall condition and changes in blood stream quality). Circular endothelial contusion and reduction of blood stream velocity induced thrombogenesis. Thrombi were estimated by the Doppler-ultrasonic-technique and macroscopically.

Under these experimental conditions the antithrombotic efficacy and the duration of the thromboprophylactic effect of the unfractionated heparin Liquemin^R in a dose of 140 IU/kg body weight and the low molecular weight heparin fraction CY 216 in a dose of 250 anti-Xa-U/kg body weight were compared. The control animals received isotonic saline.

The substances tested were given as single subcutaneous injections at defined time intervals (2h, 4h, 6h and 12h) prior to the induction of the thrombus.

The results of the investigation demonstrate that the low molecular weight heparin CY 216 was equally effective as the unfractionated heparin at the chosen dose (2h-group).

The question, whether the low molecular weight heparin CY 216 has a longer antithrombotic effect than the conventional heparin Liquemin^R, could not definitely be answered in the present study.

CY 216 showed a significant antithrombotic effect when given 4 hours before thrombus induction. In contrast, under the prophylaxis with unfractionated heparin a remarkable reduction of the antithrombotic action could be observed after 4 hours. Statistically, however, a significant difference could not be found between the Liquemin^R- and

the CY 216- group nor between the Liquemin^R- and the control group at this injection interval.

6 and 12 hours after injection neither CY 216 nor Liquemin^R could significantly prevent thrombogenesis.

From these results it is concluded that the thromboprophylactic effect of the low molecular weight heparin CY 216 in the recommended dose is lasting between 4 and 6 hours.

By means of the recorded Doppler-signals significantly more emboli could be detected in the animals treated with CY 216.

IX. Literaturverzeichnis

1. Abildgaard U.
Heparin cofactor and antithrombin.
Thrombos. Diathes. Haemorrh. 33 (1974): 38 - 42
2. Aiach M., Michaud A., Baliau J.-L., Lefebvre M.,
Woler M., Fourtillau J.
A new low molecular weight heparin derivate. In
vitro and in vivo studies.
Thromb. Res. 31 (1983): 611 - 621
3. Ammann J. F., Aebi B.
Das Blutungsrisiko der Thromboembolie-Prophylaxe
in der Allgemeinchirurgie: Vergleich von low-dose-
Heparin mit Heparin-Dihydergot 2500.
Chirurg 54 (1983): 29 - 32
4. Andersson L. O., Barrowcliffe T. W., Holmer E.,
Johnson E. A., Söderström G.
Molecular weight dependency of the heparin
potentiated inhibition of thrombin and
activated factor X. Effect of heparin
neutralization in plasma.
Thromb. Res. 15 (1979): 531 -541
5. Andersson L. O., Barrowcliffe T. W., Holmer E.,
Johnson E. A., Sims G. E. C.
Anticoagulant properties of heparin fractionated
by affinity chromatography on matrix-bound
antithrombin III and by gel filtration.
Thromb. Res. 9 (1976): 575 - 583
6. Barrowcliffe T. W., Curtis A. D., Tomlinson T. P.,
Hubbard A. R., Johnson E. A., Thomas D. P.
Standardization of low molecular weight heparins:
a collaborative study.
Thrombos. Haemostas. 54 (3) (1985): 675 - 679

7. Barrowcliffe T. W., Johnson E. A., Eggleton C. A.,
Kemball-Cook G., Thomas D. P.
Anticoagulant activities of high and low molecular
weight heparin fraction.
Br. J. Haematol. 41 (1979): 573 - 583

8. Barrowcliffe T. W., Johnson E. A., Eggleton C. A.,
Thomas D. P.
Anticoagulant activities of lung and mucous heparin.
Thromb. Res. 12 (1977): 27 - 36

9. Barsotti J., Dabo B., Andreu J., Alison D.,
Leroy J., Delahousse B.
Prevention of deep vein thrombosis (DVT) by
Enoxaparine (Lovenox^R) after surgery for fracture
of femoral neck. One daily injection of 40 mg
versus two daily injections of 20 mg.
Thrombos. Haemostas. 58 (1987): 891 (abstr.)

10. Barzu T., van Rijn J. L. M. L., Petitou M.,
Tobele G., Caen J. P.
Heparin degradation in the endothelial cells.
Thromb. Res. 47 (1987): 601 - 609

11. Bergqvist D., Burmark U. S., Frisell J., Halböök T.,
Lindblad B., Risberg B., Törngren S., Wallin G.
Low molecular weight heparin once daily compared
with conventional low-dose heparin twice daily.
A prospective double-blind multi-centre trial on
prevention of postoperative thrombosis.
Br. J. Surg. 73 (1986): 204 - 208

12. Bergqvist D., Frisell J., Hallböök T., Horn A.,
Lindhagen A., Ljungner H., Ljungström K. G.,
Mätzsch T., Onarheim H., Risberg B., Törngren S.,
Ortenwall P., Burmark U. S.
Swedish-Norwegian multicenter trial: a randomized
double-blind study on the prevention of
postoperative deep vein thrombosis - heparin
fragment (Fragmin^R) from the evening before
surgery versus low-dose heparin.
Thromb. Res., Suppl. VII (1987): 20

13. Bergqvist D., Hedner U., Sjörin E., Holmer E.
Anticoagulant effects of two types of low molecular
weight heparin administered subcutaneously.
Thromb. Res. 32 (1983): 381 - 391

14. Boneu B., Buchanan M. R., Cade J. F., van Ryn J.,
Fernandez F. F., Ofosu F. A., Hirsh J.
Effects of heparin, its low molecular weight
fractions and other glycosaminoglycans on
thrombus growth in vivo.
Thromb. Res. 40 (1985): 81 - 89

15. Boneu B., Buchanan M. R., Caranobe C., Gabaig A. M.,
Dupouy D., Sie P., Hirsh J.
The disappearance of a low molecular weight heparin
fraction (CY 216) differs from standard heparin in
rabbits.
Thromb. Res. 46 (1987): 845 - 853

16. Boneu B., Caranobe C., Gabaig A. M., Dupouy D.,
Sie P.
Evidence for a saturable mechanism of disappearance
of standard heparin in rabbits.
Thromb. Res. 46 (1987): 835 - 844

17. Borm J. J. J., Krediet R., Stark A., ten Cate J. W.
Heparin versus low molecular weight heparin
Kabi 2165 in chronic hemodialysis patients:
a randomized cross-over study.
Haemostasis 16, Suppl. 2 (1986): 59 - 68
18. Brace L. D., Fareed J.
An objective assessment of the interaction of
heparin and its fractions with human platelets.
Sem. Thromb. Hemost. 11 (1985): 190 - 198
19. Brace L. D., Fareed J., Tomeo J., Issleib S.
Biochemical and pharmacological studies on the
interaction of PK 10169 and its subfractions with
human platelets.
Haemostasis 16 (1986): 93 - 105
20. Bratt G., Aberg W., Törnebohm E., Granqvist S.,
Lockner D.
S.c. Kabi 2165 in the treatment of deep venous
thrombosis (DVT) of the leg.
Thromb. Res., Suppl. VII (1987): 24
21. Bratt G., Törnebohm E., Granqvist S., Aberg W.,
Lockner D.
A comparison between low molecular weight heparin
(Kabi 2165) and standard heparin in the intravenous
treatment of deep venous thrombosis.
Thrombos. Haemostas. 54 (4) (1987): 813 - 817
22. Bratt G., Törnebohm E., Lockner D., Bergström K.
A human pharmacological study comparing conventional
heparin and a low molecular weight heparin fragment.
Thrombos. Haemostas. 54 (1985): 208 - 211

23. Bratt G., Törnebohm E., Widlund L., Lockner D.
 Low molecular weight heparin (Kabi 2165, Fragmin^R)
 pharmacokinetics after intravenous and subcutaneous
 administration in human volunteers.
 Thromb. Res. 42 (1986): 613 - 620

24. Breddin K.
 Voraussetzungen und Anforderungen für
 Thrombosemodelle am Tier.
 in: Breddin K., Gross D., Rotter W. (Hrsg.):
 Thrombosemodelle am Tier, Schattauer Verlag
 Stuttgart - New York (1981): 25 - 29

25. Breyer H.-G., Hahn F., Koppenhagen K., Bacher P.,
 Werner B.
 Prevention of deep vein thrombosis in orthopedic
 surgery. Fragmin^R versus Heparin-DHE.
 Thromb. Res., Suppl.VII (1987): 23

26. Bruhn H. D.
 Physiologische Bedeutung des Heparin.
 in: Bruhn H. D.: Niedrig dosiertes Heparin:
 Wirkungsweise und Indikationen, 3. Aufl.,
 F.K.Schattauer Verlag Stuttgart (1982): 5

27. Buchanan M. R., Boneu B., Ofori F., Hirsh J.
 The relative importance of thrombin inhibition
 and factor Xa inhibition to the antithrombotic
 effects of heparin.
 Blood 65 (1) (1985): 198 - 201

28. Cade J. F., Buchanan M. R., Boneu B., Ockelford P.,
 Carter C. J., Cerskus A. L., Hirsh J.
 A comparison of the antithrombotic and haemorrhagic
 effects of low molecular weight heparin fractions:
 the influence of the method of preparation.
 Thromb. Res. 35 (1984): 613 - 625

29. Caen J. P.

A randomized, double-blind study of a low molecular weight heparin (Kabi 2165) once daily and low-dose standard heparin twice daily in the prevention of postoperative deep vein thrombosis in general surgery. A French multi-centre trial.
Thromb. Res., Suppl. VII (1987): 21

30. Caranobe C., Barret A., Gabaig A. M., Dupouy D., Sie P., Boneu B.

Disappearance of circulating anti-Xa-activity after intravenous injection of standard heparin and of a low molecular weight heparin (CY 216) in normal and nephrectomized rabbits.
Thromb. Res. 40 (1985): 129 - 133

31. Caranobe C., Dupouy D., Gabaig A. M., Boneu B.

Comparative pharmacokinetic study of standard heparin (SH) and of low molecular weight heparin (LMWH) in the rabbit.
Thrombos. Haemostas. 54 (1) (1985): 196 (abstr.)

32. Carreras L. O.

Thrombosis and thrombocytopenia induced by heparin.
Scand. J. Haemat. 25, Suppl.36 (1980): 64 - 80

33. Carter C. J., Kelton J. G., Hirsh J., Cerskus A., Santos A. V., Gent M.

The relationship between the hemorrhagic and antithrombotic properties of low molecular weight heparin in rabbits.
Blood 59 (1982): 1239 - 1245

34. Carter C. J., Kelton J. G., Hirsh J., Gent M.

Relationship between the antithrombotic and anticoagulant effects of low molecular weight heparin.
Thromb. Res. 21 (1981): 169 - 174

35. Casu B.
Structure of heparins and their fragments.
Nouv. Rev. Fr. Hematol. 26 (1984): 211 - 219
36. Choay J., Lormeau J. C., Petitou M.
Physical, chemical, biological characteristics
and sequence of the antithrombin III binding site
of the heparin low molecular weight fraction CY 216.
Haemostasis 12 (1982): 219 (abstr.)
37. Choay J., Lormeau J. C., Petitou M., Torri G.,
Sinay P.
Physico-chemical studies on oligosaccharides
from porcine mucosal heparin.
Thrombos. Haemostas. 46 (1981): 236 (abstr.)
38. Dahan R., Houlbert D., Caulin C., Cuzin E.,
Viltart C., Woler M., Segrestaa J. M.
Prevention of deep vein thrombosis in elderly
medical in-patients by a low molecular weight
heparin: a randomized double-blind trial.
Haemostasis 16 (1986): 159 - 164
39. Dahme E.
Kreislauforgane.
in: Dahme E., Weiss E. (Hrsg.): Grundriß der
speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere,
3. Aufl., Enke Verlag Stuttgart (1983): 1 - 34
40. Damus P. S., Hicks M., Rosenberg R. D.
Anticoagulant action of heparin.
Nature 246 (1973): 355 - 357
41. Dawes J.
Physiological heparin - its function and fate.
in: Witt I. (eds.): Heparin - new biochemical
and medical aspects, Walter de Gruyter Berlin -
New York (1983): 47 - 61

42. Dawes J., Bara L., Billaud E., Samama M.
Relationship between biological activity and concentration of a low molecular weight heparin (PK 10169) and unfractionated heparin after intravenous and subcutaneous administration.
Haemostasis 16 (1986): 116 - 122
43. Dawes J., Prowse C. V., Pepper D. S.
Absorption of heparin , LMW heparin and SP 54 after subcutaneous injection, assessed by competitive binding assay.
Thromb. Res. 44 (1986): 683 - 693
44. Dawes J., Smith R. C., Pepper D. S.
The release, distribution, and clearance of human β -Thromboglobulin and platelet factor 4.
Thromb. Res. 12 (1978): 851 - 861
45. Denton J., Lane D. A., Thunberg L., Slater A. M., Lindahl U.
Binding of platelet factor 4 to heparin oligosaccharides.
Biochem. J. 209 (1983): 455 - 460
46. De Swart C. A. M., Nijmeyer B., Roelofs J. M. M., Sixma J. J.
Kinetics of intravenously administered heparin in normal humans.
Blood 60 (6) (1982): 1251 - 1258
47. Doutremepuich Ch., Bousquet F., Gestreau G. L., Toulemonde F., Bayrou B.
Comparative study on the effects of a low molecular weight heparin (CY 216) and standard heparin in low dosage on experimental venous thrombosis.
Haemostasis 17 (1987): 201 - 205

48. Doutremepuich Ch., Toulemonde F., Bousquet F.,
Bonini F.
Comparison of the haemorrhagic effects of
unfractionated heparin and a low molecular
weight heparin fraction (CY 216) in rabbits.
Thromb. Res. 43 (1986): 691 - 695
49. Duckert F.
Heparin - Kofaktor II.
Hämostaseologie 6 (1986): 131 - 138
50. Dunn F. W., Soria C., Thomaidis A., Soria J.,
Dupuy E., Belluci S., Tobelem G.
Interactions of platelets with standard heparin
and low molecular weight fractions.
Nouv. Rev. Fr. Hematol. 26 (1984): 249 - 253
51. Eriksson E., Wolter I. M., Christenson B.,
Stigendal L., Bisberg B.
Enhancement of fibrinolysis by heparin.
Fibrinolysis, 8th Internat. Congress on
Fibrinolysis, Vienna 1986 (1986): 329 (abstr.)
52. Fabris F., Fussi F., Casonato A., Visentin L.,
Randi M., Smith M. R., Girolami A.
Normal and low molecular weight heparins:
interaction with human platelets.
Europ. Clin. Invest. 13 (1983): 135 - 139
53. Fareed J., Kumar A., Rock A., Walenga J. M.,
Davis P.
A primate model (Macaca Mulatta) to study the
pharmacokinetics of heparins and its fractions.
Sem. Thromb. Hemost. 11 (2) (1985): 138 - 154

54. Fareed J., Kumar A., Walenga J. M., Emanuele R. M.,
Williamson K., Hoppenstedt D.
Antithrombotic actions and pharmacokinetics of
heparin fractions and fragments.
Nouv. Rev. Fr. Hemat. 26 (1984): 267 - 275
55. Fareed J., Walenga J. M., Hoppensteadt D. A.,
Emanuele R. M.
Laboratory studies on the intravenous and
subcutaneous administration of PK 10169 in man.
Haemostasis 16 (1986): 123 - 138
56. Fareed J., Walenga J. M., Hoppensteadt D. A.,
Messmore H. L.
Studies on the profibrinolytic actions of heparin
and its fractions.
Sem. Thromb. Hemost. 11 (1985): 199 - 207
57. Fareed J., Walenga J. M., Kumar A., Rock A.
A modified stasis thrombosis model to study the
antithrombotic actions of heparin and its fractions.
Sem. Thromb. Hemost. 11 (2) (1985): 155 - 175
58. Fareed J.
Heparin, its fractions, fragments and derivatives.
Some newer perspectives.
Sem. Thromb. Hemost. 11 (1) (1985): 1 - 9
59. Follea G., Laville M., Pozet N., Dechavanne M.
Pharmacokinetic studies of standard heparin and
low molecular weight heparin in patients with
chronic renal failure.
Haemostasis 16 (1986): 147 - 151
60. Gensini G. F., Fortini A., Lombardi A.,
Pesciullesi E., Pieroni C., Neri Serneri G. G.
Binding of low molecular weight heparin to aortic
endothelium in rabbits.
Haemostasis 14 (1984): 466 - 472

61. Godal H. C.
Report of the international committee on thrombosis
and haemostasis - thrombocytopenia and heparin.
Thrombos. Haemostas. 43 (1980): 222 - 224

62. Gonault-Heilmann M., Huet Y., Aduot S., Coutant G.,
Bonnet F., Intrator L., Payen D., Levent M.
Low molecular weight heparin fractions as an
alternative therapy in heparin-induced
thrombocytopenia.
Haemostasis 17 (1987): 134 - 140

63. Gruber U. F., Saldeen T., Brokop T., Eklöf B., Eriksson J.,
Goldie J., Grau L., Hohl M., Jonsson T., Kristersson S.,
Ljungström K. G., Lund T., Martman Moe H., Svensjö E.,
Thomson D., Torhorst J., Trippestad A., Ulstein M.
Incidence of fatal postoperative pulmonary embolism
after prophylaxis with dextran 70 and low-dose-heparin:
an international multicentre study.
Br. Med. J. 280 (1980): 69 - 72

64. Haas S., Fritsche H.-M., Stemberger A., Otto J.,
Lechner F., Blümel G.
Antithrombotic efficiency of Embolex-NM^R in total hip
replacement under various schedules of administration.
Haemostasis 18, Suppl. 2 (1988): 28 (abstr.)

65. Haas S., Haas P., Blümel G.
Niedermolekulare Heparine: Eine Übersicht über
Wirkprofil und bisherige klinische Anwendung.
Hämostaseologie 6 (1986): 180 - 192

66. Haas S., Stemberger A., Fritsche H.-M., Welzel D.,
Wolf H., Lechner F., Blümel G.
Prophylaxis of deep vein thrombosis in high risk
patients undergoing total hip replacement with low
molecular weight heparin plus dihydroergotamine.
Arzneim.-Forsch./Drug Res. 37 (7) (1987): 839 - 843

67. Haas S., Stemberger A., Fritsche H.-M., Lechner F.
Untersuchungen zur antithrombotischen Wirksamkeit
von niedermolekularem Heparin Kabi.
Med.Welt 38 (1987): 714 - 720
68. Haas S., Zielke E.
Postoperative Thromboseprophylaxe mit 2500 Anti-Xa-E
niedermolekularem Heparin Kabi in der Abdominal-
chirurgie.
Med.Welt 38 (1987): 1658 - 1661
69. Hamelmann H., Voigt J.
Heparin zur Thromboembolieprophylaxe in der
Chirurgie.
Zent.bl. Chir. 111 (1986): 1289 - 1295
70. Harbauer G.: persönliche Mitteilung (1984)
71. Harbauer G., Hiller W., Uhl U. J., Wenzel E.
A venous thrombosis model in the rabbit.
in: Breddin K., Zimmermann R. (eds.):
Standardization of animal models of thrombosis.
17. Angiological Sympos. Kitzbühel, F.K.Schattauer
Verl. Stuttgart - New York (1983): 115 - 119
72. Harenberg J., Giese Chr., Knödler A., Zimmermann R.,
Schettler G.
Antagonisierung von niedermolekularem Heparin durch
Protaminchlorid.
Herz/Kreisl. 18 (11) (1986): 578 - 581
73. Harenberg J., Giese Chr., Knödler A., Zimmermann R.,
Schettler G.
Neutralisierung von niedermolekularem Heparin
Kabi 2165 mit Protamin.
Klin. Wochenschr. 64 (1986): 1171 - 1175

74. Harenberg J., Giese Ch., Knödler A., Erdu Y.,
Zimmermann R.
Toxikologie und klinische Pharmakologie
niedermolekularer Heparine.
in: Schmitz-Huebner U., van de Loo J. (Hrsg.):
Niedermolekulares Heparin - Workshop in Münster
1985, F.K.Schattauer Verl. Stuttgart (1986): 1 - 9

75. Harenberg J., Gnasso A., de Vries J. X.,
Zimmermann R., Augustin J.
Inhibition of low molecular weight heparin
by protamine chloride in vivo.
Thromb. Res. 38 (1985): 11 - 20

76. Harenberg J., Leber G., Augustin J., Raedsch R.,
Schwarz F., Stichl A., Zimmermann R.
Ambulante Langzeitprophylaxe der Thromboembolie
mit niedermolekularem Heparin.
Klin. Wochenschr. 65 (1987): 331 - 337

77. Harenberg J., Schwarz F., Dietz R., Leber G.,
Zimmermann R., Kübler W.
Antikoagulation mit niedermolekularem Heparin bei
Patienten mit prothetischem Herzklappenersatz.
Zschr. Kardiologie. 76 (1987): 284 - 288

78. Harenberg J., Würzner B., Zimmermann R., Schettler G.
Bioavailability and antagonization of the low
molecular weight heparin CY 216 in man.
Thromb. Res. 44 (1986): 549 - 554

79. Hirsh J.
Heparin induced bleeding.
Nouv. Rev. Fr. Hematol. 26 (1984): 261 - 266

80. Holmer E.
Anticoagulant properties of heparin and heparin
fractions.
Scand. J. Haemat. 25, Suppl.36 (1980): 25 - 39

81. Holmer E., Mattson C., Nilsson S.
Anticoagulant and antithrombotic effects of
heparin and low molecular weight heparin
fragments in rabbits.
Thromb. Res. 25 (1982): 475 - 486
82. Holmer E., Kurachi K., Söderström G.
The molecular weight dependence of the rate-enhancing
effect of heparin on the inhibition of thrombin,
Factor Xa, Factor IXa, Factor XIa, Factor XIIa and
Kallikrein by antithrombin.
Biochem. J. 193 (1981): 395 - 400
83. Holmer E., Lindahl U., Bäckström G., Thunberg L.,
Sandberg H., Söderström G., Andersson L. O.
Anticoagulant activities and effects on platelets
of a heparin fragment with high affinity for
antithrombin.
Thromb. Res. 18 (1980): 861 - 869
84. Holmer E., Söderberg K., Bergqvist D., Lindahl U.
Heparin and its low molecular weight derivatives:
anticoagulant and antithrombotic properties.
Haemostasis 16, Suppl. 2 (1986): 1 - 7
85. Horellou M. H., Conard J., Leerubier C., Samama M.,
Roque-D'Orbcastel O., de Fenoyl O., Di Maria G.,
Bernadou A.
Persistent heparin induced thrombocytopenia despite
therapy with low molecular weight heparin.
Thrombos. Haemostas. 51 (1) (1984): 134
86. Janvier G., Winnock S., Dugrais G., Vallet A.,
Dardel E., Serise J. M., Calen S., Vergnes C.,
Toulemonde F.
Treatment of deep venous thrombosis with a very
low molecular weight heparin fragment (CY 222).
Haemostasis 17 (1987): 49 - 58

87. Jaques L. B.

Heparin: Ein neues Konzept seiner Natur und seiner Wirkung - Teil II. Die Chemie der Heparine.
Hämostaseologie 5 (1985): 88 - 91

88. Jaques L. B.

Heparin: Ein neues Konzept seiner Natur und seiner Wirkung - Teil V. Physiologische Bedeutung des Heparin.
Hämostaseologie 5 (1985): 193 - 199

89. Jaques L. B.

Heparin: Ein neues Konzept seiner Natur und seiner Wirkung - Teil III. Die klinische Wirkung des Heparin.
Hämostaseologie 5 (1985): 121 - 126

90. Johnson E. A., Kirkwood T. B. L., Stirling Y.,

Perez-Requejo J. L., Ingram G. I. C.,
Bangham D. R., Brozovic M.

Four heparin preparations: anti-Xa-potentiating effect of heparin after subcutaneous injection.
Thrombos. Haemostas. 35 (1976): 586 - 591

91. Kakkar V. V.

Prevention of venous thromboembolism.
in: Bloom A. L., Thomas D. P. (eds.): Haemostasis and thrombosis. 2nd edition, Churchill Livingstone
Edinburgh - London - Melbourne - New York (1987):
802 - 819

92. Kakkar V. V.

Low-dose heparin: Present status and future trends.
Scand. J. Haemat. 25, Suppl.36 (1980): 158 - 180

93. Kakkar V. V.

Deep vein thrombosis - Detection and prevention.
Circulation 51 (1975): 8 - 19

94. Kakkar V. V., Field E. S., Nicolaides A. N.,
Flute P. T., Wessler S., Yin E. T.
Low doses of heparin in prevention of deep vein
thrombosis.
Lancet II (1971): 669 - 673
95. Kakkar V. V., Kakkar S., Sanderson R. M., Peers C. E.
Efficacy and safety of two regimens of low molecular
weight heparin fragment (Fragmin^R) in preventing
postoperative venous thromboembolism.
Haemostasis 16, Suppl. 2 (1986): 19 - 24
96. Kelton J. G.
Heparin-induced thrombocytopenia.
Haemostasis 16 (1986): 173 - 186
97. Koller M., Schoch U., Buchmann P., Largiader F.,
von Felten A., Frick P. G.
Low molecular weight heparin (Kabi 2165) as
thromboprophylaxis in elective visceral surgery.
A randomized, double-blind study versus
unfractionated heparin.
Thrombos. Haemostas. 56 (3) (1986): 243 - 246
98. Koppenhagen K., Häring R.
Vergleichende Untersuchung zwischen Heparin-
Dihydrogot 2500 und low-dose-Heparin.
Klinikerarzt 10 (1981): 782 - 786
99. Kuster B., Gruber U. F.
Blutungskomplikationen bei der low-dose-Heparin-
Prophylaxe. Probleme in der perioperativen Phase.
in: Tilsner V., Matthias F. R.: Probleme der low-
dose-Heparin-Thromboseprophylaxe. XXVI. Hamburger
Symposium über Blutgerinnung am 3. und 4. Juni
1983, Editiones <Roche>, Basel (1983): 123 - 130

100. Lane D. A., Flynn A., Ireland M., Anastassiades E.,
Curtis J. R.
On the evaluation of heparin and low molecular
weight heparin in hemodialysis for chronic renal
failure.
Haemostasis 16, Suppl. 2 (1986): 38 - 47
101. Lane D. A., Mac Gregor I. R., van Ross M., Cella G.,
Kakkar V. V.
Molecular weight dependence of the anticoagulant
properties of heparin: intravenous and subcutaneous
administration of fractionated heparins to man.
Thromb. Res. 16 (1979): 651 - 662
102. Lane D. A., Mac Gregor J. R., Michalski R.,
Kakkar V. V.
Anticoagulant activities of four unfractionated and
fractionated heparins.
Thromb. Res. 12 (1978): 257 - 271
103. Lutter F.-X.
Beeinflussung der experimentell induzierten
Thrombose bei der Ratte durch Aprotinin.
Vet. Med. Diss., München (1984)
104. Mätzsch Th., Bergqvist D., Hedner U., Ostergaard P.
Effects of an enzymatically depolymerized heparin
as compared with conventional heparin in healthy
volunteers.
Thrombos. Haemostas. 57 (1) (1987): 97 - 101
105. Marshall M.
Bedeutung tiefer Venenthrombosen im chirurgischen
Krankengut.
Med. Klin. 81, Suppl. 3 (1986): 11 - 13

106. Mastacchi R., Stanzani L., Barbanti M.,
Montecchi L., Bianchini P.
Interaction of heparin and heparin fractions
with human platelets.
Thromb. Res. 28 (1982): 275 - 280
107. Mattson C., Palm M.
Elimination of Fragmin under normal and pathological
conditions. A preclinical study in rabbits.
Thromb. Res., Suppl. VII (1987): 16
108. Meng K.
Tierexperimentelle Thrombose und Behandlung mit
Acetylsalicylsäure.
Med. Welt 27 (1976): 1359 - 1362
109. Meng K., Seuter F.
Effect of Acetylsalicylic acid on experimentally induced
arterial thrombosis in rats.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 301 (1977):
115 - 119
110. Merton R. E., Thomas D. P., Havercroft S. J.,
Barrowcliffe T. W., Lindahl U.
High and low affinity heparin compared with
unfractionated heparin as antithrombotic drugs.
Thrombos. Haemostas. 51 (2) (1984): 254 - 256
111. Ockelford P. A., Carter C. J., Mitchell L., Hirsh J.
Discordance between the anti-Xa activity and the
antithrombotic activity of an ultra-low molecular
weight heparin fraction.
Thromb. Res. 28 (1982): 401 - 409

112. Ockelford P. A., Kesteren P. J., Patterson J.,
Brand N., Johns A.
A double-blind placebo controlled trial to study
the efficacy and safety of a low molecular weight
heparin fragment (Fragmin^R) in patients having
major elective general surgery.
Thromb. Res., Suppl. VII (1987): 19 (abstr.)
113. Ockelford P., Carter C. J., Cerskus A.,
Smith C. A., Hirsh J.
Comparison of the in vivo haemorrhagic and
antithrombotic effects of a low antithrombin III
affinity heparin fraction.
Thromb. Res. 27 (1982): 679 - 690
114. Petitou M.
Synthetic heparin fragments: new and efficient
tools for the study of heparin and its
interactions.
Nouv. Rev. Fr. Hematol. 26 (1984): 221 - 226
115. Philp R. B.
Experimental animal models of arterial thrombosis
and the screening of platelet-inhibiting, anti-
thrombotic drugs: a review.
Meth. and Find. Exptl. Clin. Pharmacol 1 (4)
(1979): 197 - 224
116. Planes A., Vochelle N., Ferru J., Przyrowski D.,
Clerc J., Fagola M., Planes M.
Enoxaparine low molecular weight heparin: its use
in the prevention of deep venous vein thrombosis
following total hip replacement.
Haemostasis 16 (1986): 152 - 158

117. Pouzol P., Polack B., Dechelette E., Jurkovitz C.
The anticoagulant effect of Enoxaparine (Lovenox^R)
during hemodialysis.
Thrombos. Haemostas. 58 (1987): 416 (abstr.)
118. Quilliet L., Charbounier B., Raynaud Ph.,
Delahousse B., Toulemonde F., Brochier M. L.
Treatment of pulmonary embolism by a very low
molecular weight heparin fragment (CY 222).
A dose range study.
Thrombos. Haemostas. 58 (1987): 433 (abstr.)
119. Racanelli A., Fareed J., Walenga J. M., Coyne E.
Biochemical and pharmacological studies on the
protamine interactions with heparin, its
fractions and fragments.
Sem. Thromb. Hemost. 11 (2) (1985): 176 - 189
120. Reuter H. D.
Niedermolekulares Heparin in der Therapie der
heparininduzierten Thrombozytopenie.
Med. Klin. 82 (1987): 115 - 118
121. Rosenberg R. D.
The heparin-antithrombin system: a natural
anticoagulant mechanism.
in: Colman R. W., Hirsh J., Marder V. J.,
Salzman E. W. (eds.): Haemostasis and thrombosis -
Basic principles and clinical practice. 2nd
edition, J.B.Lippincott Comp.-Philadelphia
(1987):1373 - 1392
122. Rosenberg R. D.
Actions and interactions of antithrombin and
heparin.
New Engl. J. Med. 292 (1975): 146 - 151

123. Rutllant M. L., Fontcuberta J., Martinez-Jubitero J. M., Borell M.
The influence of low molecular weight heparin (LMWH) or standard heparin (UFH) on fibrinolysis. Fibrinolysis, 8th Internat. Congress on Fibrinolysis, Vienna 1986 (1986): 205 (abstr.)
124. Salzman E. W., Hirsh J.
Prevention of venous thromboembolism.
in: Colman R. W., Hirsh J., Marder V. J., Salzman E. W.: Haemostasis and thrombosis - basic principles and clinical practice. 2nd edition, J.B.Lippincott Comp. Philadelphia (1987): 1252 - 1265
125. Salzman E. W., Rosenberg R. D., Smith M. H., Lindon J. N., Favreau L.
Effect of heparin and heparin fractions on platelet aggregation.
J. Clin. Invest. 65 (1980): 64 - 73
126. Samama M., Bernard P., Bounardot J. P., Tissot E., Lanson Y., Combe-Tamzali S.
Low molecular weight heparin (Enoxaparin) compared with unfractionated heparin thrice daily in prevention of postoperative thrombosis. A randomized multicentre trial.
Thrombos. Haemostas. 58 (1987): 69 (abstr.)
127. Sasahara A. A., Koppenhagen K., Häring R., Welzel D., Wolf H.
Low molecular weight heparin plus dihydroergotamine for prophylaxis of postoperative deep vein thrombosis.
Br. J. Surg. 73 (1986): 697 - 700

128. Schmidt R.
Eine neue Methode zur Erzeugung von Thromben durch
Unterkühlung der Gefäßwand und ihre Anwendung zur
Prüfung von Acetylsalicylsäure und Heparin.
Med. Diss., Gießen (1975)
129. Schmitz -Huebner U., Balleisen L., Asbeck F.,
van de Loo J.
In vivo studies on the inhibition of coagulation
by fractionated heparin and by a heparin analogue.
I. Effects of heparin fractions.
Thrombos. Haemostas. 46 (1981): 612 - 616
130. Schmitz-Huebner U., Bünte H., Freise G., Reers B.,
Rüschemeyer C., Scherer R., Schulte H.,
van de Loo J.
Clinical efficacy of low molecular weight heparin
in postoperative thrombosis prophylaxis.
Klin. Wochenschr. 62 (1984): 349 - 353
131. Scholz M. E.
Tierexperimentelle Untersuchungen zur anti-
thrombotischen Wirkung eines niedermolekularen
Heparin mit einem Thrombosemodell, das auf einer
Kombination von kälteinduzierter Endothelschädigung
und Drosseln des Blutflusses beruht.
Med. Diss., München (1988)
132. Schrader J., Kandt M., Köstering H., Plache H.,
Valentin R., Tönnis H.-J., Lowitz H. D.,
Quellhorst E., Scheler F.
Langzeitbehandlung von niedermolekularem Heparin
bei Hämodialyse - und Hämofiltrationspatienten.
in: Schmitz-Huebner U., van de Loo J. (Hrsg.):
Niedermolekulares Heparin. Workshop in Münster 1985,
F.K.Schattauer Verl., Stuttgart (1986): 79 - 89

133. Schrader J., Kandt M., Zürcher C., Köstering H., Scheler F.
Comparison of unfractionated heparin and low molecular weight heparin during long-term use in chronic hemodialysis and hemofiltration patients.
Haemostasis 16, Suppl. 2 (1986): 48 - 58
134. Schrader J., Valentin R., Tönnis H.-J., Hildebrand U., Stibbe W., Armstrong V. W., Kandt M., Köstering H., Quellhorst E.
Low molecular weight heparin in hemodialysis and hemofiltration patients.
Kidney Int. 28 (1985): 823 - 829
135. Sie P., Aillaud M. F., de Prost D., Droulle C., Forestier F., Guedj P., Juhan-Vague I., Polack B., Potron G., Roucato M., Roussi J., Sampol J., Aiach M.
Measurement of low molecular weight heparin ex vivo activities in clinical laboratories using various anti-Xa-assays: interlaboratory variability and requirement for an agreed LMWH standard.
Thrombos. Haemostas. 58 (3) (1987): 879 - 883
136. Strauer B. E.
Pathophysiologie und Klinik der Lungenembolie.
Internist 25 (1984): 108 - 125
137. Thomas D. P., Merton R. E., Barrowcliffe T. W., Thunberg L., Lindahl U.
Effects of heparin oligosaccharides with high affinity for antithrombin III in experimental venous thrombosis.
Thrombos. Haemostas. 47 (3) (1982): 244 - 248
138. Tobelem G., Bikfalvi A., Dupuy E., Lesche G.
Vascular cell reactions with heparins.
Thromb. Res., Suppl. VII (1987): 15

139. Tober-Meyer B.
Vorschläge zur Narkose bei Kaninchen,
Meerschweinchen und kleinen Nagern.
Kleintier-Praxis 22 (1977): 335 - 346
140. Tollefsen D. M.
Activation of heparin cofactor II by heparin
and dermatan sulfate.
Nouv. Rev. Fr. Hematol. 26 (1984): 233 - 237
141. Vairel E. G., Bouty-Boye H., Toulemonde F.,
Doutremepuich C., Marsh N. A., Gaffney P. J.
Heparin and a low molecular weight fraction
enhances thrombolysis and by this pathway
exercises a protective effect against thrombosis.
Thromb. Res. 30 (1983): 219 - 224
142. Van Rijn J. L. M. L., Trillou M., Mardiguian J.,
Tobelem G., Caen J.
Selective binding of heparin to human endothelial
cells. Implications for pharmacokinetics.
Thromb. Res. 45 (1987): 211 - 222
143. Verstraete M.
Ungeklärte Fragen zu Heparin.
Triangel 23 (2) (1984): 49 - 56
144. Vinazzer H., Stemberger A., Haas S., Blümel G.
Influence of heparin, of different heparin fractions
and of low molecular weight heparin-like substance
on the mechanism of fibrinolysis.
Thromb. Res. 27 (1982): 341 - 352
145. Vinazzer H., Woler M.
A new low molecular weight heparin fragment
(PK 10169): in vitro and in vivo studies.
Haemostasis 16 (1986): 106 - 115

146. Vitoux J-F., Mathieu J.-F., Roncato M.,
Fiessinger J.-N., Aiach M.
Heparin-associated thrombocytopenia: treatment with
low molecular weight heparin.
Thrombos. Haemostas. 55 (1) (1986): 37 - 39

147. Voigt J., Hamelmann H., Hedderich J., Seifert J.,
Buchhammer T., Kohler A.
Wirksamkeit und unerwünschte Wirkungen von
niedermolekularem Heparin-Dihydroergotamin zur
Thromboembolieprophylaxe in der Abdominalchirurgie.
Zentr.bl. Chir. 111 (1986): 1296 - 1305

148. Von Ungern-Sternberg A.
Thromboembolische Komplikationen nach Verletzungen
und operativen Eingriffen an der unteren Extremität.
Krankenhaus Arzt 60 (1987): 518 - 522

149. Walenga J. M., Fareed J., Petitou M., Samama M.,
Lormeau J. C., Choay J.
Intravenous antithrombotic activity of a synthetic
heparin pentasaccharide in a human serum induced
stasis thrombosis model.
Thromb. Res. 43 (1986): 243 - 248

150. Walenga J. M., Petitou M., Lormeau J. C., Samama M.,
Fareed J., Choay J.
Antithrombotic activity of a synthetic heparin
pentasaccharide in a rabbit stasis thrombosis model
using different thrombogenic challenges.
Thromb. Res. 46 (1987): 187 - 198

151. Weber U., Schöndorf T. H.
Stand der Thromboseprophylaxe in der Orthopädie.
Med. Welt 32 (9) (1981): 277 - 283

152. Wessler S.
 Small doses of heparin and a new concept of hypercoagulability.
 Thromb. Diath. Haemorrh. 33 (1975): 81 - 86

153. Wessler S., Yin E. T.
 On the antithrombotic action of heparin.
 Thromb. Diath. Haemorrh. 32 (1974): 71 - 78

154. Wessler S.
 Studies in intravascular coagulation.
 III. The pathogenesis of serum-induced venous thrombosis.
 J. Clin. Invest. 34 (1955): 647 - 651

155. Westwick J., Scully M. F., Poll C., Kakkar V. V.
 Comparison of the effects of low molecular weight heparin and unfractionated heparin on activation of human platelets in vitro.
 Thromb. Res. 42 (1986): 435 - 447

156. Widlund L., Mattson Ch., Grälls M., Hallström H., Kindmark G., Söderström G., Holmer E.
 Pharmacokinetics of a low molecular weight heparin fragment in the rat and in the dog.
 Thrombos. Haemostas. 50 (1) (1983): 693 (abstr.)

157. Wintzer H.-J., Dämmrich K.
 Lymph- und Blutgefäße.
 in: Schebitz H., Brass W. (Hrsg.): Allgemeine Chirurgie für Tierärzte und Studierende. Verl. Paul Parey, Berlin - Hamburg (1975): 359 - 369

158. Yin E. T.
 Effect of heparin on the neutralization of factor Xa and thrombin by the plasma alpha-II globulin inhibitor.
 Thromb Diathes. Haemorrh. 33 (1975): 43 - 50

X. Verzeichnis der Abkürzungen und Symbole

ADP	= Adenosindiphosphat
APTT	= aktivierte partielle Thromboplastinzeit
AT III	= Antithrombin III
Ca	= Calcium
Ch.-B.	= Chargenbezeichnung
cm	= Zentimeter
DHE	= Dihydroergotamin
E	= Einheiten
ELT	= Euglobulin-Lysis-Zeit
F.(a)	= Gerinnungsfaktor (aktiviert)
g	= Gramm
h	= Stunde
HA	= High Affinity
IE	= Internationale Einheit
i.v.	= intravenös
kg	= Kilogramm
KG	= Körpergewicht
LA	= Low Affinity
LD	= Letal-Dosis
min	= Minute
ml	= Milliliter
mm	= Millimeter
NaCl	= Kochsalz
NMH	= Niedermolekulares Heparin
p	= statistische Irrtumswahrscheinlichkeit
PCC/RVV	= Prothrombin Complex Concentrate/Russell's Viper Venom
PF 3	= Plättchenfaktor 3
PF 4	= Plättchenfaktor 4
s	= Sekunde
s.c.	= subkutan
t-PA	= gewebeständiger Plasminogenaktivator
UFH	= Unfraktioniertes Heparin

XI. Danksagung

Herrn Professor Dr. med. vet. U. Lösch, Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München, danke ich für die Übernahme der Arbeit und sein Interesse an der Durchführung.

Ferner gilt mein Dank Herrn Professor Dr. med. G. Blümel, Leiter des Instituts für Experimentelle Chirurgie der Technischen Universität München, für die großzügige Schaffung der Arbeitsmöglichkeiten an seinem Institut.

Frau Professor Dr. med S. Haas danke ich für die Überlassung des Themas, ihre Unterstützung und ihre kritischen Anregungen bei der Durchführung der Arbeit.

Mein Dank gebührt auch Herrn Professor Dr. med. vet. W. Erhardt für die Unterstützung bei der Abfassung des Manuskripts.

Dank schulde ich auch Herrn Professor Dr. med. G. Harbauer, Leiter der Abteilung für Klinisch-Experimentelle Chirurgie im Universitätsklinikum Homburg/Saar, der mich in das Tiermodell einarbeitete.

Allen Mitarbeitern des Instituts für Experimentelle Chirurgie der Technischen Universität München möchte ich für die stete Hilfsbereitschaft danken, insbesondere Herrn Dipl. Ing O. Petrovicz für die Beratung bei der statistischen Auswertung.

XII. Lebenslauf

1. Persönliches

Name	: R i e d l
Vornamen	: <u>Armin</u> Ernst
Geburtsdatum	: 22.01.1960
Geburtsort	: Hechingen/Baden-Württemberg
Familienstand	: ledig
Konfession	: römisch-katholisch
Staatsangehörigkeit	: deutsch
Wohnort	: 8400 Regensburg, Rauberstr. 25

2. Schulischer Werdegang

Sept. 1966 - Juli 1970	: Grundschule Burladingen/Baden-Württemberg
Sept. 1970 - Juni 1979	: Werner-von-Siemens-Gymnasium Regensburg: Allgemeine Hochschulreife
1.07.79 - 30.09.80	: Grundwehrdienst

3. Beruflicher Werdegang

WS 1980/81	: Beginn des Studiums der Tiermedizin an der Freien Universität Berlin
------------	--

WS 1982/83	: Wechsel an die Ludwig-Maximilians Universität München
------------	---

Die Approbation als Tierarzt wurde mir am 22.08.1986 erteilt. Seit Oktober 1986 bin ich am Institut für Experimentelle Chirurgie der Technischen Universität München tätig.

